

Universidad de Santiago de Compostela

Facultad de Medicina y Odontología

Departamento de Cirugía



CARCINOMA DE MAMA DE TIPO BASAL

Perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico

Tesis realizada y presentada por

Gonzalo De Castro Parga

para optar al Grado de Doctor

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

CARCINOMA DE MAMA DE TIPO BASAL
Perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico

Tesis realizada y presentada por
Gonzalo De Castro Parga
para optar al Grado de Doctor

2010

Directores de la Tesis

Dr. Jorge F. Cameselle Teijeiro
Médico de Familia. Vigo
Instituto de Patología e Inmunología
Universidade de Oporto

Prof. Dr. Francisco Barreiro Morandeira
Facultad de Medicina
Departamento de Cirugía
Universidade de Santiago de Compostela

D. **Jorge F. Cameselle Teijeiro**, Doctor en Medicina y Cirugía, y D. **Francisco Barreiro Morandeira**, Doctor en Medicina y Cirugía y profesor Titular del Departamento de Cirugía de la Universidad de Santiago de Compostela,

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación, titulado **"CARCINOMA DE MAMA DE TIPO BASAL. Perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico"**, presentado por **D. Gonzalo De Castro Parga** para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía, ha sido realizado bajo nuestra dirección.

Revisado el mismo, quedamos conformes con su presentación para ser juzgado como Tesis Doctoral por el correspondiente tribunal.

Para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Santiago de Compostela, a 19 de Mayo de dos mil diez.

Fdo.:
**Dr. Jorge F.
Cameselle Teijeiro**

Fdo.:
**Prof. Francisco
Barreiro Morandeira**

Agradecimientos

Cuando comencé este trabajo de investigación, hace ya varios años, recibí el apoyo de muchos compañeros. Ahora al finalizarlo, hago balance de la ayuda recibida y me doy cuenta de que la colaboración de cada uno de ellos ha sido imprescindible para la conclusión de esta Tesis.

Mi agradecimiento especial:

Al *Dr. Jorge F. Cameselle Teijeiro*, Doctor en Medicina y Cirugía, Patólogo y compañero M.I.R. en el Hospital Xeral-Cíes. Su entusiasmo, generosidad y dedicación a la investigación en la patología mamaria han sido los verdaderos motores para la realización de este trabajo. A su mujer, la *Dra. María Emilia Cortizo Torres*, por las sugerencias aportadas, y a *sus hijos* por la colaboración en su trabajo.

Al *Prof. Dr. Francisco Barreiro Morandeira*, profesor de Patología Quirúrgica de la Facultad de Medicina, por su hospitalidad, la confianza y el apoyo que en todo momento me ha brindado. Durante mi época de estudiante, sus clases hicieron despertar en mí el interés por la Cirugía, y posteriormente gracias a las facilidades que me ha dado he podido desarrollar este trabajo de investigación.

Al *Dr. Constantino Sobrino Montero*, jefe clínico de la Unidad de Senología y Patología Mamaria del servicio de Cirugía General del H. Xeral-Cíes, CHU Vigo. Ha sido el responsable de mi dedicación e interés hacia la Cirugía de la mama. Desde el año 2005 nos hemos complicado la vida con más trabajo y múltiples proyectos en la Unidad, y esta tesis ha sido uno de ellos.

Al *Dr. Enrique Fluiters*, médico de Familia, por su ingenio y asesoramiento estadístico, necesarios para que haya podido comprender los aspectos más importantes de la investigación.

Al *Prof. Dr. Fernando Carlos Schmitt*, Director del Instituto de Patología e Inmunología Molecular de la Universidad de Oporto (IPATIMUP). Experto en patología mamaria cuyo prestigio es reconocido internacionalmente, por el constante apoyo que brinda a nuestro grupo de investigación, del que es una pieza clave.

Al todo el personal médico, enfermeras, auxiliares y secretarías del *Servicio de Cirugía General del H. Xeral-Cíes, CHU de Vigo*. De una manera muy especial a mis compañeros de planta, a mi compañero de guardias, *Dr. Mauricio Iribarren Díaz*, por las facilidades de tiempo que me ha prestado para escribir este trabajo, y al Jefe de Servicio, *Dr. Pedro Gil Gil*, por su motivación para mejorar nuestro trabajo diario. A *Nieves Cristóbal*, nuestra imprescindible colaboradora en la consulta de la Unidad de Mama, por su especial dedicación y control de las pacientes, fundamental para el desarrollo de este estudio.

A la *Dra. Rosa Mallo Alonso*, Doctora en Medicina y Cirugía y jefe de sección de Radiología Mamaria del CHU Vigo. Su disposición, capacidad de trabajo, y colaboración continua son estimulantes tanto para el trabajo cotidiano como para la investigación en

esta materia. Parte del trabajo realizado en su tesis doctoral también ha sido imprescindible para la conclusión de la mía.

A todos mis compañeros del *grupo de investigación de enfermedades mamarias del área sanitaria del sur de Pontevedra (proyecto Águeda-Vigo)* por los múltiples apoyos recibidos.

A todos los componentes del *Comité Multidisciplinario de Patología Mamaria* del H. Xeral-Cíes, CHU Vigo (Anatomía Patológica: Dra. R. Fernández Martín; Cirugía: Dr. C. Sobrino; Ginecología; Dres.: J. Álvarez, M. Gil y M. Porto; Oncología Médica: Dra. Isaura Fernández; Radiodiagnóstico: Dra. R. Mallo, Dra. M.J. Díaz Veiga; Radioterapia: Dra. L. Lóuzara; y Resonancia Magnética: Dres. M. Arias y A. Iglesias). El trabajo de todos y cada uno de nosotros, ha sido importante para alcanzar el alto nivel que tenemos en las discusiones sobre el manejo de los casos en nuestro medio, y que debemos mantener en el futuro.

Al personal médico del *Servicio de Medicina Nuclear* del CHU Vigo por su colaboración en el desarrollo de la técnica de la biopsia del ganglio centinela, fundamental para evitar la morbilidad de la linfadenectomía axilar en el cáncer de mama.

A todo el personal de la *Unidad de Investigación de Patología Mamaria del IPATIMUP* (Oporto), por su trabajo y las facilidades dadas para la elaboración de este estudio.

Al personal técnico, celadores, administrativos y médicos del *Servicio de Anatomía Patológica* del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo por su generosa colaboración.

A los *Servicios de Archivo General y Biblioteca* del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo por las enormes facilidades dadas por todo el personal, que pese a su gran carga de trabajo colaboraron desde el anonimato con una disponibilidad excepcional.

A aquellos *amigos*, que por su actitud en la vida y disciplina constituyen para mí un ejemplo.

Y a las *enfermas de cáncer de mama*, las que están y las que ya no están. A sus familias. Todas ellas han compartido con nosotros sus recuerdos, muchos de ellos dolorosos, y han hecho que este trabajo tenga para mí un sentido especial. Gracias.

"Divide et impera"

Frase atribuida a Julio César, S. I a.c.

Dedicatoria

A mi familia:

A mis padres, por el apoyo y ejemplo que han sido para mí.

A mis hermanos.

A mi mujer Begoña, y a mis hijos Carlota y Gonzalo; lo más importante de mi vida y lo que más quiero.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	11
REVISIÓN CRÍTICA DEL TEMA	15
Cáncer de Mama	16
Factores de Riesgo de Cáncer de Mama	17
Clasificaciones en Cáncer de Mama	18
Clasificación Histológica (OMS) del Cáncer de Mama	19
Clasificación por Grado Histológico	21
Clasificación TNM y por Estadios (UICC, 2003)	22
Otros factores pronósticos y predictivos del Cáncer de Mama	33
Tissue Microarrays	36
Clasificación Molecular del Cáncer de Mama	38
Organización de la glándula mamaria. Tipos celulares	38
¿Por qué una nueva clasificación?	40
Características morfológicas, moleculares, clínicas e implicaciones terapéuticas de los nuevos subtipos de Cáncer de Mama	46
Limitaciones de la nueva clasificación molecular del Cáncer de Mama	49
Subgrupos moleculares y su relación con las Stem Cells del Cáncer de Mama	50
Carcinoma de Mama de tipo Basal	53
Antecedentes históricos	53
¿Qué es un Cáncer de Mama de Tipo Basal?	54
Características Clínicas del Cáncer de Mama de Tipo Basal	58
Epidemiología	58
Presentación Clínica	58
Diseminación	59
Pronóstico	60
Relación Cáncer de Mama de tipo Basal y Mutaciones BRCA1	62
Características patológicas del Cáncer de Mama de Tipo Basal	63
Tamaño tumoral y actividad proliferativa	63
Subtipo histológico	64
Grado histológico y otros hallazgos patológicos	64
Implicaciones terapéuticas del Cáncer de Mama de Tipo Basal	66
Cáncer de Mama de Tipo Basal versus Cáncer de Mama Triple negativo	67
MATERIAL Y MÉTODOS	70
A.- PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO:	71
1.- Tipo de estudio.	71
2.- Objetivos.	71
B.- Población a estudiar:	72
1.- Criterios de inclusión.	72
2.- Criterios de exclusión.	72
3.- Características.	72
C.- MUESTRA, MUESTREO Y MARCO DEL ESTUDIO:	73
1.- Tamaño y características de la muestra.	73
2.- Tipo de muestreo y marco del estudio.	73
3.- Confidencialidad de los datos y medidas de seguridad.	73
4.- Calidad de los datos.	74
D.- VARIABLES ESTUDIADAS.	74

1.- Variables clínicas.	74
2.- Variables histopatológicas.	75
3.- Variables de estadificación TNM (AJCC, 2003).	77
4.- Clasificación de los casos en subtipos moleculares.	77
5.- Variables oncológicas.	82
E.- EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE RESULTADOS.	84
F.- ESTRUCTURA DEL TRABAJO Y TRATAMIENTO DE LA BIBLIOGRAFÍA.	86
 RESULTADOS	 87
A.- CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE.	88
1.- Edad y Sexo.	88
2.- Clasificación de los casos en subtipos moleculares.	90
3.- Localización, Bilateralidad y Multifocalidad.	91
4.- Historia Obstétrica.	92
5.- Agregación Familiar de CM.	93
6.- Asociación con otras Neoplasias Malignas.	93
7.- Grupo Sanguíneo.	94
8.- Grado de diferenciación de Bloom-Richardson.	95
9.- Diferenciación tubular, Pleomorfismo nuclear y Actividad mitótica.	96
10.- Tipos Histológicos.	97
11.- Presencia de componente intraductal extenso.	99
12.- Presencia de Enfermedad de Paget del Pezón.	99
13.- Expresión de Ki67, p53 y E-Cadherina.	99
14.- Tamaño tumoral.	100
15.- Afectación ganglionar linfática.	100
16.- Relación entre tamaño tumoral, afectación ganglionar axilar y edad.	101
17.- Serie de CM Femenino: Agrupación Por Estadios (AJCC 2003).	102
18.- Supervivencia global a 25 años.	103
B.- CLASIFICACIÓN MOLECULAR: SUBTIPOS DE CM.	104
1.- Marcadores inmunohistoquímicos utilizados.	104
2.- Frecuencia del CMTB en nuestro medio.	106
C.- ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS VARIABLES ENTRE EL CM BASAL versus CM NO BASALES.	108
1.- Edad.	108
2.- Localización, Bilateralidad y Multifocalidad.	109
3.- Historia Obstétrica.	110
4.- Agregación Familiar de CM.	112
5.- Asociación con otras Neoplasias Malignas.	113
6.- Grupo Sanguíneo.	114
7.- Grado de diferenciación de Bloom-Richardson.	115
8.- Diferenciación tubular, Pleomorfismo nuclear y Actividad mitótica.	116
9.- Tipos Histológicos.	117
10.- Presencia de componente intraductal extenso.	119
11.- Presencia de Enfermedad de Paget del Pezón.	120
12.- Expresión de Ki67, p53 y E-Cadherina.	120
13.- Tamaño tumoral.	122
14.- Afectación ganglionar linfática.	123
15.- Relación entre tamaño tumoral y afectación ganglionar axilar.	124
16.- Agrupación Por Estadios (AJCC 2003).	125
17.- Recidiva local.	126
18.- Patrón de metastatización.	127

D.- ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA.	129
1.- Supervivencia global de la serie.	129
2.- Edad.	130
3.- Grado de diferenciación.	131
4.- Tamaño tumoral pT.	132
5.- Afectación axilar.	133
6.- Afectación ganglionar pN.	134
7.- Estadío pTNM.	135
8.- Subtipos moleculares.	136
9.- Estudio comparativo CM Basal Vs. CM no basales.	137
10.- CM Basal Vs. CM no basales: edad.	138
11.- CM Basal Vs. CM no basales: grado de diferenciación	139
12.- CM Basal Vs. CM no basales: tamaño tumoral pT.	140
13.- CM Basal Vs. CM no basales: afectación axilar.	142
14.- CM Basal Vs. CM no basales: afectación nodal pN.	143
15.- CM Basal Vs. CM no basales: Estadío pTNM.	145
16.- Análisis Multivariante.	147
 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	 149
A.- CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE.	150
B.- FRECUENCIA DEL CARCINOMA DE MAMA DE TIPO BASAL.	154
C.- ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS VARIABLES ENTRE LOS CM TIPO BASAL versus CM NO BASALES.	155
1.- Edad.	155
2.- Localización, bilateralidad y multifocalidad.	156
3.- Historia obstétrica.	157
4.- Agregación familiar de CM.	158
5.- Asociación con otras neoplasias malignas.	160
6.- Grupos sanguíneos.	160
7.- Grado de diferenciación, diferenciación tubular, pleomorfismo nuclear y actividad mitótica.	160
8.- Tipo Histológico.	161
9.- Componente intraductal extenso.	162
10.- Enfermedad de Paget del pezón.	163
11.- Expresión de Ki67.	163
12.- Expresión de E-Cadherina.	163
13.- Tamaño tumoral.	163
14.- Afectación ganglionar linfática.	164
15.- Relación tamaño tumoral y afectación ganglionar axilar.	164
16.- Estadios TNM (AJCC, 2003).	165
17.- Recidiva local.	165
18.- Patrón de metastatización.	166
D.- ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA.	168
1.- Estudio de variables con significado pronóstico.	168
2.- Supervivencia global y subtipos moleculares.	168
3.- CM Basal Vs. CM no basales.	170
 CONCLUSIONES	 173
 BIBLIOGRAFÍA	 177

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Introducción

La actual clasificación de los carcinomas infiltrantes de la mama por la Organización Mundial de la Salud es histológica y representa una extensa lista, donde los más frecuentes son el carcinoma ductal invasivo (50 a 75%) y el carcinoma lobular invasivo (5-15%). Los restantes, considerados tipos especiales y menos frecuentes, incluyen el carcinoma tubular, mucinoso, medular y metaplásico, entre otros¹. Los parámetros obtenidos por el examen patológico tradicional, como tamaño, tipo y grado histológico del tumor, invasión vascular, afectación de los ganglios linfáticos, índice de proliferación celular y expresión de receptores hormonales, son considerados factores de pronóstico clásicos en el cáncer de mama. Pero, estos factores pronósticos no son suficientes para prever el comportamiento biológico de los carcinomas, por lo que la búsqueda de una nueva clasificación que refleje más adecuadamente el pronóstico de los carcinomas infiltrantes de mama y sus posibilidades terapéuticas².

El CM se presenta como una enfermedad heterogénea, no sólo desde el punto de vista clínico e histológico, sino también en su perfil de expresión genética. La utilización de la técnica de cDNA (*complementary DesoxiriboNucleic Acid*) *microarray*, permitió correlacionar la diversidad fenotípica de los carcinomas de mama con la expresión génica y así, con una nueva taxonomía molecular, clasificarlos en tres grupos principales³:

- **LUMINAL**: grupo que expresa receptores de estrógenos. Se caracteriza por la alta expresión de genes asociados a las células epiteliales luminales y factores de transcripción que incluyen el receptor estrogénico (RE). En su inmunofenotipo expresa citoqueratinas (CK) 7, 8, 18 y 19. Este subtipo representa cerca del 70% de los cánceres de mama infiltrantes y se asocia a un pronóstico más favorable y a una mejor respuesta a la terapia endocrina con tamoxifeno e inhibidores de aromatasa.
- **SUBTIPO QUE SOBRE-EXPRESA HER2** (*Human Epidermal Receptor 2 – receptor epidérmico humano 2*): este subtipo sobre-expresa el receptor tirosina-cinasa HER2 (15 a 30%) presenta peor pronóstico en relación con los de tipo luminal. Son candidatos al tratamiento con Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el dominio extracelular de este receptor.
- y un tercer subtipo denominado **DE TIPO BASAL**: con diferenciación celular basal, caracterizada por la ausencia de receptores hormonales (RE y RPg), y de HER2,

siendo vulgarmente designado como “triple negativo”, y con expresión de marcadores característicos de las células basales/mioepiteliales. Los carcinomas de tipo basal, representan entre el 2 y el 18% de los carcinomas invasivos de la mama. Presentan una elevada agresividad y una tasa menor de respuesta a las terapias tradicionales, sin una diana molecular específica. Por ello, representan un área de interés cada vez mayor ya que la caracterización de su perfil molecular podrá conducir al descubrimiento y aplicación de terapias dirigidas⁴.

Matos et al⁵. (2005) y Livasy et al⁶. (2006) demostraron que es posible reconocer los subtipos moleculares del CM a través del fenotipo inmunohistoquímico con tan sólo la utilización de dos anticuerpos – contra RE y HER2 – que definen los subtipos principales: luminal (RE+/HER2-), el que sobreexpresa HER2 (RE-/HER2+) y el de tipo basal (RE-/HER2-, y con expresión de marcadores basales).

El carcinoma de tipo basal es de los tres el menos prevalente, pero el más agresivo y aquel que no posee un tratamiento específico, una vez que no expresa receptores hormonales ni HER2, que son las actuales dianas terapéuticas en el cáncer de mama.

Por ello, estos tumores son tema de varios trabajos de investigación que intentan conocer su origen histogenético, y su caracterización desde el punto de vista molecular e inmunohistoquímico. La utilización de marcadores basales/mioepiteliales permite una mejor caracterización del fenotipo basal^{7,8}.

Existen muchas controversias relativas a su histogénesis y al perfil molecular, de interés para influir en su abordaje terapéutico: por ejemplo, el reconocimiento del EGFR como un receptor de expresión con elevada frecuencia en estos carcinomas y los avances farmacológicos en terapias dirigidas, se presentan como una probable diana terapéutica para estos tumores⁹.

Este trabajo de investigación pretende aportar una visión integrada del carcinoma de tipo basal.

Objetivos:

Estudiar el Carcinoma de Mama Infiltrante de Tipo Basal:

1. Medir la frecuencia del CM de TIPO BASAL en nuestro medio.
2. Conocer el perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico del CM de TIPO BASAL, y sus peculiaridades en comparación con el resto de CM no basales.
3. Conocer la significación pronóstica del carcinoma de tipo basal en cuanto a supervivencia global.

REVISIÓN CRÍTICA

Revisión crítica

CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es uno de los principales problemas de salud en las mujeres del mundo desarrollado. En estos países es la causa más frecuente de cáncer y constituye la primera causa de muerte debida a neoplasia maligna¹⁰.

En el año 2006 se diagnosticaron en la Unión Europea 319.900 nuevos casos, lo que representa el 30,9% de todos los cánceres en la mujer. Las tasas de incidencia mas alta fueron en Bélgica, Irlanda, Holanda, Francia y Suecia (más de 125 por 100.000 mujeres) y las más bajas en los países de Europa del Este (Letonia, Lituania, y Eslovaquia) (menos de 70 por 100.000). España tiene una tasa de incidencia media en relación con los países de su entorno (93,6 por 100.000)¹¹ (Tabla I).

País	Incidencia *	País	Mortalidad *
Bélgica	137,8	Dinamarca	34,5
Irlanda	131,4	Bélgica	33,5
Holanda	128	Hungría	30,3
Francia	127,4	Holanda	29,8
Suecia	125,8	Irlanda	29,3
Dinamarca	122,6	Eslovenia	28,6
Reino Unido	122,2	Reino Unido	27,3
Alemania	121,2	República Checa	26,7
Finlandia	119,8	Alemania	26,5
Hungría	118	Letonia	26,4
Luxemburgo	116,9	Estonia	26
Italia	105,3	Francia	25,9
Portugal	103,5	Lituania	25,8
Malta	94,5	Austria	24,6
España	93,6	Italia	24
Austria	91,5	Luxemburgo	23,4
Chipre	88,4	Malta	23
Eslovenia	87,5	Chipre	22,1
República Checa	84,8	Grecia	21,7
Grecia	81,8	Eslovaquia	21,2
Polonia	74,1	Suecia	21,1
Estonia	71,1	Portugal	21
Eslovaquia	69,7	Polonia	20,9
Lituania	68,7	Finlandia	20,5
Letonia	64,8	España	19,2

Tabla I. Estimación de la incidencia y mortalidad por cáncer de mama ajustada por edad en mujeres de la Unión Europea. 2006. **Unión Europea (EU25): 110,3; Unión Europea (EU25): 25.** * Tasas por 100.000 mujeres ajustadas a la población europea. Fuente: Ferlay J. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007; 18: 581-592¹¹.

En los países de la Unión Europea, se estima que en el 2006 hubo 85.300 muertes por esta causa, con una tasa de mortalidad estandarizada por edad y población europea de 25 por 100.000 mujeres, (tabla I), destacando países como Dinamarca, Bélgica y Hungría con tasas superiores al 30 por 100.000 mujeres, siendo España el país con tasa de mortalidad mas baja (19,2 por 100.000 mujeres)¹¹. En la comunidad gallega en ese mismo año, los datos del Programa Galego de Detección Precoz do Cancro de Mama, reflejan una mortalidad de 15,9 por 100.000 mujeres, siendo en las 4 provincias, también, ligeramente inferior a la tasa media nacional¹².

En un estudio nacional sobre la distribución municipal de la tasa de mortalidad por CM en mujeres españolas, se encontró que ésta estaba influenciada de manera positiva por el estatus socioeconómico y negativamente a la ruralidad y a poblaciones con proporciones superiores de mujeres mayores. Las variaciones geográficas en la tasa de mortalidad sugieren también una mayor influencia de variables ambientales¹³.

En España, la mortalidad por cáncer de mama comienza a descender a partir del año 1992 a un ritmo de un 2% anual¹⁰. Este efecto paradójico del aumento de la incidencia con disminución de la mortalidad se atribuye, principalmente, a la detección precoz del cáncer en estadios tempranos (lo que facilitaría una terapia más resolutive), y a los avances diagnósticos y terapéuticos¹⁴.

FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE MAMA

Debido a que la etiología del CM es probablemente multifactorial y a que su desarrollo sea la etapa final de una secuencia de fenómenos celulares, es importante conocer, al menos desde un punto de vista preventivo, los factores de riesgo que aumentan la posibilidad de padecer la enfermedad^{15,16} (Tabla II).

Aunque se identifica a grupos de mujeres con un grado significativo de predisposición, la mayoría de los CM se desarrollan en mujeres sin ningún factor de riesgo que no sea la edad¹⁷.

Un factor de riesgo es aquel que actúa como un *predictor estadístico de enfermedad*. Ha sido propuesto que el denominador común para la mayoría de esos factores de riesgo del CM es una FUERTE y/o PROLONGADA ESTIMULACIÓN ESTROGÉNICA, operando en un fondo GENÉTICAMENTE SUSCEPTIBLE¹⁷.

Factor	Riesgo Relativo	Grupo de alto riesgo
Edad	> 10	Gente mayor
Localización geográfica	5	Países desarrollados
Edad menarquia	3	Antes de 11 años
Edad menopausia	2	Después de 54 años
Edad al primer recién nacido	3	Primer niño sobre los 40 años
Historia familiar	≥ 2	CM en familiar de primer grado y joven
Enfermedad benigna previa	4 - 5	Hiperplasia atípica
Cáncer en la otra mama	> 4	
Grupo socioeconómico	2	Grupos I y II
Dieta	1,5	Ingesta alta de grasas saturadas
Premenopausia	0,7	IMC > 35
Postmenopausia	2	IMC > 35
Consumo de alcohol	1,3	Ingesta excesiva
Exposición a radiaciones ionizantes	3	Exposición en mujeres jóvenes > 10 a.
Toma de hormonas exógenas:		
Anticonceptivos orales	1,24	Uso actual
Terapia hormonal sustitutiva combinada	2,3	Uso durante ≥ 10 a.
Estrógenos exógenos	1,3	Uso durante ≥ 10 a.
Dietilestilbestrol	2	Uso durante embarazo

Tabla II: Factores de Riesgo probables y establecidos para el Cáncer de Mama.

La elevada frecuencia y su mortalidad convierten al CM en un importante problema de Salud Pública. Una de cada 8-15 mujeres (según países) desarrollará un CM a lo largo de su vida. En el futuro, debido al aumento de la población femenina en riesgo (mujeres mayores de 45 años) y a los cambios en el estilo de vida (menos hijos, edad tardía del 1er. parto, dieta, obesidad,...), probablemente observaremos como los países con bajo riesgo para cáncer de mama igualarán las tasas de incidencia que hoy se registran en los países ses más desarrollados¹⁶.

CLASIFICACIONES EN CM

En las primeras páginas de este trabajo hemos querido dejar plasmado intencionadamente el aforismo latino "*Divide et impera*" atribuido a Julio César, en relación a estrategias de guerra. En base a la experiencia adquirida sobre aspectos clínicos, morfológicos, inmunohistoquímicos, moleculares y genéticos; en la práctica encontramos en el CM múltiples situaciones que nos sugieren utilizar abordajes terapéuticos individualizados a cada caso o grupos de casos. Clasificar una enfermedad tan heterogénea como es el CM, es la clave del éxito en su tratamiento. Para vencer la enfermedad, tenemos que ganar la mayoría de las pequeñas batallas. Por tanto: ¿Para qué nos sirven estas clasificaciones?, y ¿Cuál es la intención de las mismas?

Básicamente estas cuestiones se responden con estos cinco apartados:

- Ayudar al clínico a planificar el tratamiento local y sistémico.
- Informar sobre el probable pronóstico
- Facilitar información entre los especialistas implicados en el tratamiento.
- Evaluar los resultados del tratamiento realizado.
- Contribuir en la investigación.

Históricamente la clasificación del cáncer de mama se ha basado en un concepto mixto anatómico e histológico. La determinación de la extensión anatómica de la enfermedad mediante el sistema TNM y el estudio de las características histológicas permitieron subdividir el cáncer de mama en diferentes estadios y subtipos específicos correlacionados con el pronóstico y la supervivencia. Posteriormente se incorporaron el grado de diferenciación celular, marcadores proliferativos, y otros factores con valor pronóstico y predictivo según la respuesta a diferentes tratamientos: los receptores de estrógenos y progesterona expresados por el tumor, y la sobre-expresión del HER2. Más recientemente, con el desarrollo de técnicas de estudio genómico, se ha clasificado el CM en base a sus características moleculares. Todos estos aspectos serán desarrollados en la siguiente revisión crítica.

CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DEL CÁNCER DE MAMA

El carcinoma de mama invasivo constituye un grupo heterogéneo de lesiones que presentan diferencias en su presentación clínica, características radiográficas, histológicas y el potencial biológico. Desde un punto de vista patológico se trata de tumores epiteliales malignos caracterizados por la invasión de tejidos adyacentes y por una marcada tendencia a metastatizar a distancia. La gran mayoría de estos tumores son adenocarcinomas supuestamente derivados del epitelio del parénquima mamario, particularmente de las células de la unidad terminal ducto-lobular.

La clasificación más ampliamente utilizada del CM es la de la O.M.S¹. Este esquema clasificatorio se basa en el patrón de crecimiento y las características citológicas de las células invasivas tumorales, no implicando la histogénesis ni el lugar de origen dentro del sistema ductal mamario. Tampoco refleja directamente el pronóstico final de la enfermedad. Distingue 19 categorías (Tabla III), la mayoría de ellas infrecuentes.

El tipo histológico más común de CM es, con diferencia, el *carcinoma ductal infiltrante* (40-75%)¹⁸. De hecho, el diagnóstico de un carcinoma ductal invasivo es un diagnóstico por descarte; este tipo tumoral es definido como un tipo de CM que por no presentar suficientes características es “no clasificado en cualquier otra categoría de CM infiltrante” (carcinoma ductal infiltrante no especificado de otra manera –NOS: Not Otherwise Specified-)¹.

Los *carcinomas lobulillares infiltrantes* constituyen el segundo grupo más frecuente (5-15%) de CM infiltrantes¹. Se caracterizan por su mayor tendencia a la multifocalidad y bilateralidad¹⁸. Histológicamente se asocia con carcinoma lobulillar in situ y se compone de células sin cohesividad individual dispersas u organizadas en un patrón lineal dentro de un estroma fibroso¹. Durante los últimos años parece haber aumentado su incidencia en mujeres postmenopáusicas y por ello se ha relacionado en parte con el uso de terapia hormonal sustitutiva¹⁹.

El *carcinoma tubular* (1-4%) es un tipo especial de CM que típicamente se asocia con un potencial metastático limitado. Se presenta en edades más tardías, tiene un excelente pronóstico y es detectado con mayor frecuencia en poblaciones sometidas a cribado mamográfico¹⁸.

El *carcinoma medular*, dependiendo de la rigurosidad utilizada en cuanto a los criterios diagnósticos, representa entre un 1-7% de todos los CM. Se trata de lesiones bien circunscritas, compuestas de células pobremente diferenciadas dispuestas en láminas, sin estructuras glandulares, escaso estroma y con un marcado infiltrado linfoplasmocitario¹. A pesar de esta apariencia histológica agresiva en algunos estudios muestra un pronóstico favorable, pero la disparidad existente a la hora del diagnóstico le confiere un pronóstico incierto¹⁸. Los CM medulares y ductales infiltrantes con rasgos medulares se asocian con pacientes con mutaciones BRCA1²⁰.

Con menor frecuencia (< 1%), el carcinoma metaplásico representa un grupo heterogéneo de CM invasivos, en los cuales una proporción variable de células glandulares epiteliales han sufrido una transformación en otro tipo celular (epitelial no glandular o mesenquimal)¹⁸. Como veremos posteriormente, también existe una asociación importante entre los CM metaplásicos y el CMTB²¹.

Tumores epiteliales de la glándula mamaria	
Carcinoma ductal infiltrante NOS (not otherwise specified)	Tipo mixto Carcinoma Pleomórfico Carcinoma con células gigantes osteoclasticas Carcinoma con rasgos coriocarcinomatoides Carcinoma con rasgos melanóticos
Carcinoma lobulillar infiltrante	
Carcinoma tubular	
Carcinoma invasivo cribiforme	
Carcinoma medular	
Carcinoma mucinoso y otros tumores con abundante mucina	Carcinoma mucinoso Cistadenocarcinoma y carcinoma mucinoso de células columnares Carcinoma de células en anillo de sello
Tumores neuroendocrinos	Carcinoma sólido neuroendocrino Tumor atípico carcinoide Carcinoma de células pequeñas Carcinoma de células grandes
Carcinoma papilar invasivo	
Carcinoma invasivo micropapilar	
Carcinoma apocrino	
Carcinoma metaplásico	Carcinoma metaplásico epitelial puro Carcinoma de células escamosas Adenocarcinoma con metaplasia de células fusiformes Carcinoma adenoescamoso Carcinoma mucoepidermoide Carcinomas metaplásicos mixtos epitelial / mesenquimal
Carcinoma rico en lípidos	
Carcinoma secretor	
Carcinoma oncocítico	
Carcinoma adenoide quístico	
Carcinoma de células acinares	
Carcinoma de células claras ricas en glucógeno	
Carcinoma sebáceo	
Carcinoma inflamatorio	

Tabla III: Clasificación de la O.M.S. de los tumores epiteliales malignos de la glándula mamaria¹

CLASIFICACIÓN POR GRADO HISTOLÓGICO

Existen diversos sistemas de gradación histológica del cáncer de mama. La finalidad de todos ellos es establecer la diferenciación tumoral, es decir, en qué grado el tumor reproduce o no la estructura histológica normal en la que se ha originado. La importancia que el grado histológico tiene como factor pronóstico está en la relación que tiene con el tamaño tumoral, la afectación ganglionar, la recidiva y la supervivencia. Es importante que sea un sistema fácilmente reproducible y estandarizado, de forma que distintos patólogos en distintos momentos sean capaces de coincidir al establecer el

grado histológico de un mismo tumor; por ello que se recomienda gradar cualquier tumor independientemente de la variedad histológica que esté presente²².

En este sentido el sistema de gradación establecido por Scarff-Bloom-Richardson²³ y posteriormente modificado por Elston y Ellis²⁴ es uno de los más utilizados. Se trata de un índice en el que se tienen en cuenta tres variables: la formación de túbulos, el pleomorfismo nuclear y el número de mitosis, según el resultado de cada variable se asigna un valor y una vez sumados los tres valores se determina el grado histológico (Tabla IV).

Sin embargo, como cualquier sistema de gradación, basado en más de dos categorías, existe una tendencia a agrupar a la mayor parte de los casos en la categoría intermedia²².

% Formación túbulos	Pleomorfismo nuclear	Nº mitosis
> 75% = 1	Leve = 1	< 10 /cga = 1
10-75% = 2	Moderado = 2	10-19 / cga = 2
< 10% = 3	Intenso = 3	> 20 / cga = 3

Tabla IV: Clasificación de Elston y Ellis del grado histológico. Cga: campo de gran aumento.

Grado I (bien diferenciado): Suma de valores de las tres variables: 3-5; **Grado II (moderadamente diferenciado):** 6-7; **Grado III (pobremente diferenciado):** 8-9.

CLASIFICACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA TNM Y POR ESTADIOS (UICC 2003)

Aunque tratar de estratificar el espectro completo del cáncer dentro de unas pocas categorías es una simplificación, la determinación de los “*estadios*” en el CM es un objetivo deseable, importante para planificar el tratamiento, indicar el pronóstico probable, evaluar los resultados de las distintas modalidades terapéuticas y facilitar el intercambio de información entre centros asistenciales. Constituye una herramienta útil para mejorar la comprensión de la enfermedad, incorporando los progresos científicos en esta área. En relación con el CM, el estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico continúa siendo el factor pronóstico más importante.

Todo nuevo índice pronóstico reproducible y predictivo debe ser tenido en cuenta para su posible inclusión en futuros sistemas de estadificación. De hecho, los recientes avances de la biología molecular, de las técnicas inmunohistoquímicas y la nueva técnica del ganglio centinela²⁵ ya han tenido una implicación muy importante en la sexta edición de la clasificación TNM de la UICC^{26,27,28}, que entró en vigencia en enero de 2003.

Clasificación TNM actual

El desarrollo histórico de la estadificación del CM comenzó a principios del siglo XX^{29,30,31,32,33,34,35,36}. A pesar de la aceptación que tuvo en sus inicios la Clasificación Clínica de Columbia (CCC) su uso se ha ido sustituyendo paulatinamente por el del nuevo Sistema TNM. Entre 1943 y 1952, Pierre Denoix³⁷, del Instituto Gustave Roussy de Paris, describió un sistema para establecer las diferentes etapas clínicas del CM que denominó "**Clasificación TNM**" (T de "tumor", N de nódulos "ganglio linfático" y M -de "metástasis"). Su clasificación fue discutida por una serie de comisiones y consensuada para un "ensayo masivo". Aceptada y publicada para el cáncer de mama y laringe en 1958 por la UICC³⁸ (Unión Internacional Contra el Cáncer), se han ido modificando según las necesidades, apareciendo nuevas versiones^{39,40,41} y extendiéndose a otras localizaciones en años sucesivos; hasta que después de numerosas reuniones nacionales e internacionales se publica^{42,43} en la primavera de **1987 un sistema unificado de clasificación TNM**, propuesto conjuntamente por la UICC (Union Internationale Contre le Cancer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer). Hubo modificaciones posteriores^{27,28,44,45} y a comienzos del 2002, se publicó la sexta y hasta ahora última edición^{46,47,48} de la clasificación TNM por la UICC, la cual entró en vigor en enero de 2003. Aunque en principio este sistema de estadificación parece complejo, unir ambos sistemas de estadificación, clínica y patológica, es útil. La nueva clasificación TNM introduce una serie de cambios derivados de la aplicación de la técnica del ganglio centinela y el uso de la técnica de la inmunohistoquímica, con implicaciones muy importantes.

Clasificación clínica cTNM

En relación al factor **tamaño tumoral (cT)**, los cánceres pueden ser estadiados clínicamente por la inspección visual, palpación y las pruebas de imagen (mamografía, ecografía y resonancia magnética):

cTx.- El tumor primario no puede ser evaluado.

cT0.- No se evidencia tumor a la exploración clínica.

cTis.- Carcinoma (intraductal o intralobulillar) in situ. Enfermedad de Paget del pezón sin tumor.

Nota: La enfermedad de Paget asociada a un tumor se clasifica en función del tamaño del tumor.

cT1.- Tumor de diámetro máximo menor o igual a 2 cm:

cT1mic: Microinvasión de 0,1 cm de diámetro máximo.

Nota: La microinvasión es la extensión de las células neoplásicas más allá de la membrana basal hacia los tejidos adyacentes, pero ningún foco de extensión debe tener más de 0,1 cm de dimensión máxima. Cuando existan múltiples focos de microinvasión, sólo se utiliza el tamaño del mayor de ellos para la Clasificación (no se suman las dimensiones individuales de cada foco). La presencia de focos de microinvasión se debe registrar en cualquier caso, incluso cuando dichos focos coexisten con carcinomas invasivos múltiples de mayor tamaño.

cT1a: De más de 0,1 cm, pero menor o igual a 0,5 cm.

cT1b: De más de 0,5 cm hasta 1 cm.

cT1c: De más de 1 cm hasta 2 cm.

cT2.- Tumor de diámetro máximo > de 2 cm, pero < o igual a 5 cm.

cT3.- Tumor de diámetro máximo > de 5 cm.

cT4.- Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared del tórax o a la piel.

Nota: La afectación de la pared costal incluye las costillas, los músculos intercostales y músculo serrato anterior, pero no la afectación de los músculos pectorales.

cT4a.- Afectación de pared costal.

cT4b.- Edema (incluida la piel de naranja) o ulceración de la piel de la mama, o presencia de nódulos cutáneos (letáldes) confinados a la misma mama

cT4c.- T4a + T4b conjuntamente.

cT4d.- Carcinoma inflamatorio.

Nota: El carcinoma inflamatorio de la mama se caracteriza por una induración difusa de la piel con un borde erisipeloides y, generalmente, sin ninguna masa palpable subyacente. Si la biopsia de piel es negativa y no existe un cáncer primario localizado mensurable, al realizar la clasificación anatomopatológica de un carcinoma inflamatorio clínico (T4d), la categoría T correspondiente es pTx.

La presencia de depresiones de la piel, la retracción del pezón u otros cambios cutáneos, excepto los descritos en las categorías T4b y 4d, pueden aparecer en las categorías T1, T2 y T3 sin que se afecte su clasificación.

En cuanto a la **afectación de los ganglios linfáticos regionales (cN)**:

cNx.- No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (por ejemplo: fueron extraídos previamente).

cN0.- No se evidencian (palpan) metástasis ganglionares regionales.

cN1.- Adenopatías axilares móviles homolaterales.

cN2.- Adenopatías axilares homolaterales fijas unas a otras o a otras estructuras, o metástasis en ganglios mamarios internos homolaterales *clínicamente aparentes* en ausencia de adenopatías axilares clínicamente evidentes.

cN2a: Adenopatías axilares homolaterales fijas unas a otras o a otras estructuras.

cN2b: Metástasis solamente en ganglios mamarios internos homolaterales *clínicamente aparentes* en ausencia de adenopatías axilares clínicamente evidentes.

cN3.- Metástasis en ganglio(s) linfático(s) infraclavicular(es) homolaterales con implicación de ganglio(s) linfático(s) axilares o sin estos, o en ganglios mamarios internos homolaterales *clínicamente aparente* en la presencia de ganglios linfáticos axilares clínicamente evidentes o metástasis en ganglio(s) linfático(s) supraclavicular(es) homolaterales con implicación de ganglios linfáticos axilares o internos, o sin ella.

cN3a: Metástasis en ganglios linfáticos infraclaviculares homolaterales.

cN3b: Metástasis en ganglios mamarios internos homolaterales y ganglios linfáticos axilares.

cN3c: Metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares homolaterales.

Nota: Clínicamente aparente se define como la detección mediante estudios de imagen (excluyendo la linfoscintigrafía) o por examen clínico o si es marcadamente visible su forma patológica.

Afectación metastática a distancia (cM):

cMx.- No puede valorarse la presencia de metástasis.

cM0.- Ausencia de metástasis.

cM1.- Metástasis a distancia.

Clasificación histopatológica postoperatoria pTNM

El sistema patológico es útil por su capacidad para definir con precisión la extensión de la enfermedad. Su interés clínico como factor pronóstico es básico, y por tanto también es útil para planear las intervenciones terapéuticas secundarias después de la cirugía.

Clasificación patológica (pT):

Las categorías pT se corresponden a las del tumor clínico (cT). La clasificación anatomopatológica requiere la exploración del carcinoma primario sin tumor macroscópico en los márgenes de resección. Un caso puede ser clasificado como pT si sólo existe un tumor microscópico en el margen.

En la clasificación de pT, el tamaño del tumor es una medida del componente invasivo. Si existe un componente *in situ* grande y un componente invasivo pequeño, el tumor se clasifica como pT según la medida de este último.

pTx.- El tumor primario no puede ser evaluado.

pT0.- No se evidencia tumor.

pTis.- Carcinoma (intraductal o intralobulillar) in situ. Enfermedad de Paget del pezón sin tumor.

Nota: La enfermedad de Paget asociada a un tumor se clasifica en función del tamaño del tumor.

pT1.- Tumor de diámetro máximo menor o igual a 2 cm:

pT1mic: Se clasifican con esta terminología aquellos casos en que la microinvasión no sobrepasa 0,1cm; en el caso de multifocalidad de la microinvasión se valora el foco más grande

pT1a: De 0,5 cm o menos.

pT1b: De más de 0,5 cm hasta 1 cm.

pT1c: De más de 1 cm hasta 2 cm.

pT2.- Tumor de diámetro máximo > de 2 cm, pero < o igual a 5 cm.

pT3.- Tumor de diámetro máximo > de 5 cm.

pT4.- Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared del tórax o a la piel.

Nota: La afectación de la pared costal incluye las costillas, los músculos intercostales y músculo serrato anterior, pero no la afectación de los músculos pectorales.

pT4a: Afectación de pared costal.

pT4b: Edema (incluida la piel de naranja) o ulceración de la piel de la mama, o presencia de nódulos cutáneos (letálides) confinados a la misma mama

pT4c: T4a + T4b conjuntamente.

pT4d: Carcinoma inflamatorio.

Nota: El carcinoma inflamatorio de la mama se caracteriza por una induración de la piel con un borde erisipeloide, generalmente sin ninguna masa palpable subyacente. Si la biopsia de piel es negativa y no existe un cáncer primario localizado mensurable, al realizar la clasificación anatomopatológica de un carcinoma inflamatorio clínico (T4d), la categoría T correspondiente es pTx.

La presencia de pequeñas depresiones de la piel, la retracción del pezón u otros cambios cutáneos, excepto los descritos en las categorías T4b y 4d, pueden aparecer en las categorías pT1, pT2 y pT3 sin que se afecte su clasificación.

Clasificación patológica (pN):

La clasificación pN se basa en la disección de ganglios linfáticos axilares con disección de ganglios linfáticos centinela o sin ellos. La clasificación basada únicamente en la disección de ganglios linfáticos centinela sin disección posterior de los ganglios linfáticos se designa (**sn**) para "ganglio centinela", por ejemplo: pN0 (i+) (sn).

La última clasificación anatomopatológica pN incorpora el número de ganglios linfáticos afectados, un criterio pronóstico muy importante (ya que cuanto mayor es el número de ganglios "positivos" peor es el pronóstico).

La disponibilidad actual de la ecografía para detectar los ganglios infraclaviculares, ubicados medialmente al margen interno del pectoral menor, junto con la demostración de su valor como indicador de peor pronóstico en enfermas con cáncer de mama localmente avanzado se brindó como justificación para re-categorizar a estos ganglios, anatómicamente axilares, como N3a o pN3a.

El compromiso de la cadena mamaria interna y su valor pronóstico se determina en función del status axilar, dado que depende mucho del estatus de otros grupos ganglionares.

pNx.- No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (no extirpados para su estudio o extirpados previamente).

pN0.- Ausencia histológica de metástasis en los ganglios linfáticos regionales sin examen adicional de células tumorales aisladas (CTA).

***Nota.-** Las células tumorales aisladas (CTA en español y ITC en inglés) se definen como células tumorales únicas o agrupaciones de células pequeñas mayores de 0,2 mm, que generalmente se detectan solo mediante métodos inmunohistoquímicos (IHC, siglas en inglés) o por métodos moleculares (RT-PCR, siglas en inglés que significan "reacción en cadena de polimerasa/transcriptasa inversa") pero que también pueden ser verificadas por tinciones de Hematoxilina y Eosina.*

pN0 (i -/+): inmunohistoquímicos.

pN0 (i -): Ausencia histológica de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, IHC negativo.

pN0 (i +): Ausencia histológica de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, IHC positivo, no hay agrupación de células IHC positivas mayor de 0,2 mm.

pN0 (mol -/+): moleculares.

pN0 (mol -): Ausencia histológica de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, hallazgos moleculares negativos (RT-PCR, por sus siglas en inglés).

pN0 (mol +): Ausencia histológica de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, hallazgos moleculares positivos (RT-PCR, por sus siglas en inglés).

pN1.-

pN1 mic: Metástasis entre 0,2 y 2 mm (axila o cadena mamaria interna).

pN1a: Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos de la axila, alguna > de 0,2 cm.

pN1b: Metástasis en cadena mamaria interna (ganglio centinela), clínicamente inaparente.

pN1c: (a + b).

pN2.-

pN2a: Metástasis en 4 a 9 ganglios linfáticos de la axila, alguna > de 0,2 cm.

pN2b.- Metástasis en cadena mamaria interna (ganglio centinela), clínicamente aparente y con axila negativa.

pN3.-

pN3a: Metástasis en 10 ó más ganglios linfáticos de la axila, alguna > de 0,2 cm; o metástasis infraclavicular ipsilateral.

pN3b: Metástasis en cadena mamaria interna clínicamente aparente y en 1 ó más ganglios axilares; o bien, metástasis microscópica detectada por ganglio centinela en la cadena mamaria interna (clínicamente inaparente) y más de 3 ganglios linfáticos axilares positivos.

pN3c: Metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.

Clasificación patológica (pM):

pMx.- No puede valorarse la presencia de metástasis. **pM0.-** Ausencia de metástasis

pM1.- Metástasis a distancia.

Gradación anatomopatológica

Gx.- El grado de diferenciación no se puede valorar.

G1.- Bien diferenciado.

G2.- Moderadamente diferenciado.

G3.- Pobremente diferenciado.

Clasificación R

La presencia o ausencia de tumor residual tras el tratamiento se puede describir con la letra R. Las definiciones de las Categorías R son las siguientes:

Rx.- La presencia o ausencia de tumor residual no se puede valorar.

R0.- Ausencia de tumor residual.

R1.- Tumor residual microscópico.

R2.- Tumor residual macroscópico.

AGRUPACIÓN POR ESTADIOS, 2003, DE LA AJCC

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1¹	N0	M0
Estadio IIA	T0	N1	M0
	T1¹	N1	
	T2	N0	
Estadio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	
Estadio IIIA	T0	N2	M0
	T1¹	N2	
	T2	N2	
	T3	N1, N2	
Estadio IIIB	T4	N0, N1, N2	M0
Estadio IIIC	Cualquier T	N3	M0
Estadio IV	Cualquier T	Cualquier N	M1
Nota ¹: T1 incluye T1 mic			

Tabla V: Estadios del CM en función de la clasificación TNM 6ª ed.

Principales cambios introducidos en la 6ª edición TNM del cáncer de mama

La clasificación se modificó para la incorporación de los siguientes avances los producidos en los últimos años²⁷:

1. La incorporación del screening por mamografía, presentándose los tumores de una manera más precoz, con distinta evolución según las características del tamaño o del número de adenopatías afectadas.
2. Nuevas técnicas en el tratamiento quirúrgico como es el Ganglio Centinela (GC). Se utiliza como práctica estándar de lesiones precoces, desarrollando un importante arsenal inmuo-histoquímico (IHC) y molecular para el diagnóstico de pequeñas metástasis ganglionares^{49,50}.
3. Mayor experiencia en el manejo clínico del cáncer de mama que permite replantear el significado patológico de otras lesiones diferentes a la axila (mamaria interna, infraclaviculares, supraclaviculares).

Todos estos cambios producen un impacto sobre las recomendaciones terapéuticas, tanto sistémicas como locorregionales.

Entre los principales cambios introducidos en la 6ª edición podemos destacar⁵¹:

1. Se diferencian las micrometástasis y células tumorales aisladas (CTA).

Se hace referencia a la BSGC y a las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares empleadas en su estudio.

En la actualidad, desconocemos el pronóstico clínico y la sensibilidad al tratamiento de las células tumorales aisladas detectadas mediante técnicas inmunohistoquímicas o moleculares. Próximamente, las nuevas subcategorías establecidas en función de la nueva técnica del ganglio centinela nos permitirán, con un adecuado seguimiento, validar la relevancia clínica de las micrometástasis. Estos factores están promoviendo la capacitación de los patólogos en la identificación de lesiones microscópicas tan pequeñas como las células tumorales aisladas. Muy probablemente en el futuro se tendrá en cuenta no sólo el tamaño sino que también la localización de las células tumorales en el ganglio linfático, ya que esta diferente localización en el interior del parénquima o en el seno marginal puede tener implicaciones pronósticas.

Desde el punto de vista biológico es diferente encontrar agrupamientos celulares (aunque sean microscópicos) en el interior del parénquima ganglionar – ya que se trata de células que adquieren capacidad de proliferar y sobrevivir en un tejido distinto al que le dio origen y por tanto con capacidad metastásica -, a encontrar células en el seno marginal que sólo evidencian células en circulación sin capacidad demostrada de metastatizar.

2. En la clasificación del estado ganglionar se considera el número de ganglios con metástasis (HE preferentemente o con inmunohistoquímica).

3. Las metástasis en los ganglios infraclaviculares se clasifican como N3.

4. Se reclasifican las metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna (N1, N2, N3), basándose en el método de su detección (clínico o de imagen), y en la asociación o no con metástasis axilares.

El manejo de los ganglios de la cadena MI en el cáncer de mama es controvertido. Históricamente conocemos que hasta un tercio de los cánceres de mama pueden tener afectados los ganglios de la MI, especialmente en aquellos de localización medial y/o con ganglios axilares positivos.

Sabemos además que las metástasis de la cadena MI tienen un pronóstico similar a los ganglios de la axila, que la afectación de ambas cadenas conlleva un pronóstico peor que la de cada una de ellas por separado y que la disección de la MI no conlleva beneficio alguno sobre la supervivencia, asociando una morbilidad no despreciable⁵².

En la quinta edición estas metástasis se consideraban como N3, reflejando el pobre pronóstico, comparado con las pacientes MI negativas. En la sexta edición las metástasis a la cadena MI se reclasifican como N1, N2 o N3 dependiendo de la carga tumoral en los ganglios (detección mediante la BSGC o por estudios de imagen), y de la presencia o ausencia de afectación simultánea de la axila (Tabla VI).

pN1b: MI + (BSGC) y axila -
pN1c: MI + (BSGC) y axila + (1-3)
pN2b: MI + (clínica/imagen) y axila -
pN3b: MI + (clínica/imagen) y axila +
N1..... ESTADIO II
N2-N3..... ESTADIO III

Tabla VI: Metástasis de la cadena Mamaria Interna (MI)

Recientemente los estudios relacionados con la BSGC vuelven a sacar a la luz el antiguo dilema de la actuación sobre los ganglios de la MI en el cáncer de mama, y nos hacen reevaluar las ideas sobre el significado de su afectación metastásica y la repercusión práctica que dicha información pueda tener en el tratamiento de estas pacientes^{52,53}.

5. Se clasifican las metástasis supraclaviculares como N3, en lugar de su consideración hasta entonces como M1.

Basándose en un único estudio llevado a cabo en el *M.D. Anderson Cancer Institute*, de Houston⁵⁴, el M1 con metástasis en los ganglios supraclaviculares homolaterales de la clasificación TNM previa se ha transformado en la 6ª edición TNM como N3c (estadios IIIc, con supervivencias a 5 años entre 5-34%, claramente superiores al estadio IV). Esta recategorización como cánceres localmente avanzados en lugar de cáncer con metástasis sistémicas pretende llamar la atención para que el oncólogo sea “ambicioso” en el tratamiento (quimioterapia adyuvante, cirugía radical), ya que estas enfermas cuando son tratadas eficazmente obtienen resultados de sobrevida similares a las enfermas en estadio III-B sin metástasis a distancia⁵⁵, lo cual, ha venido a corregir un error sobre la interpretación de la clasificación TNM.

Cuestiones para incorporar en futuras ediciones

Para algunos autores en esta última clasificación se dejó escapar una oportunidad para incorporar el grado histológico, un marcador histopatológico, barato y de amplia disponibilidad. Quedan también pendientes de más estudios otros “marcadores pronósticos” de uso común, tales como: receptor de estrógeno, HER2, p53, Ki67, ploidía, etc. Actualmente, el tratamiento del cáncer se percibe más como un problema biológico que anatómico. Posiblemente, los nuevos conocimientos que se están obteniendo debido a los avances en biología molecular terminarán por abrir nuevas vías que permitan establecer un tratamiento individualizado y adaptado a las características del tumor y de la paciente.

No obstante, debemos señalar y recordar que el actual sistema de estadificación TNM tan sólo pretende medir, en el momento del diagnóstico, la extensión anatómica de la neoplasia. Aunque ya se ha logrado un alto grado de uniformidad en la definición de los diferentes estadios, todo nuevo consenso conlleva dejar las puertas abiertas para futuras modificaciones⁵⁶ según se vaya conociendo mejor la enfermedad.

OTROS FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS DEL CÁNCER DE MAMA

Los *factores pronósticos* nos informan sobre la historia natural y la evolución de la enfermedad, sin tratamiento. Los *factores predictivos* nos informan sobre la probabilidad de respuesta o resistencia tumoral a un tratamiento determinado.

En la actualidad el estudio histopatológico del cáncer de mama incluye la valoración de factores de pronóstico clásicos (tamaño tumoral, grado histológico y estado de los ganglios linfáticos), junto con factores predictivos de respuesta al tratamiento (receptores hormonales y Her2-neu) y otros factores relacionados con la agresividad del tumor (invasión linfovascular e índice proliferativo).

La valoración de los factores predictivos y de algunos de los factores de la agresividad del tumor se realiza mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) que permiten visualizar directamente en las células tumorales distintas proteínas con función de receptores, antígenos relacionados con la proliferación celular y otros marcadores celulares expresados en tipos especiales de cáncer de mama^{57,58}.

En la Tabla VII se muestra una clasificación de los factores pronósticos y predictivos en CM, separando los factores convencionales cuya utilidad clínica está demostrada, de los reconocidos y estudiados pero en fase de validación clínica, y de los recientemente introducidos y no validados, entre los que se encuentra el perfil genético^{59,60}.

Categoría 1: FP convencionales de utilidad demostrada en clínica. Importancia pronóstica comprobada	
<i>Dependientes del tumor:</i> <ul style="list-style-type: none"> • Ganglios axilares y Tamaño tumoral • Tipo y Grado histológico • Invasión vascular y linfática. • Receptores hormonales y Oncogén HER2 	<i>Dependientes de la enferma:</i> <ul style="list-style-type: none"> • Edad
Categoría 2: FP reconocidos y bien estudiados clínica y biológicamente. Pendientes de validar su utilidad clínica	
<ul style="list-style-type: none"> • Índice de proliferación celular: índice mitótico. Captación timidina. Fase S. Ki67 (MIB1) • p53 • Angiogénesis • Activador/inhibidor del plasminógeno: uPA, PAI 1 	
Categoría 3: FP pendientes de validar	
<ul style="list-style-type: none"> • Células circulantes en sangre periférica • Micrometástasis medulares • Perfil genético 	

Tabla VII: Factores Pronósticos (FP) y predictivos en Cáncer de Mama.

RECEPTORES HORMONALES

La determinación de receptores hormonales (estrógeno y progesterona) permite valorar las posibilidades de respuesta al tratamiento hormonal. Su determinación por inmunohistoquímica se considera, en la actualidad, mejor que el método bioquímico, tanto como factor predictivo de respuesta al tratamiento hormonal, como por su mejor pronóstico en los casos positivos^{57,58,61}.

Los carcinomas infiltrantes de mama expresan receptores de estrógenos entre el 75 y el 80% de y de progesterona en el 50 y 60%. La coexpresión de ambos receptores en un tumor es un indicador de mayor probabilidad de respuesta al tratamiento hormonal y de mejor pronóstico^{62,63}.

En la reunión de consenso de Sant Gallen de 2007 se definieron tres categorías de respuesta hormonal⁶⁴.

- *Altamente hormonosensibles:* alta expresión de RE y RPg en más del 50% de células.
- *Medianamente hormonosensibles:* menor expresión de RE y RPg, o no expresión de uno de ellos.
- *Hormonorresistentes:* negatividad de ambos RE y RPg.

HER-2/neu (Human Epidermal Receptor proteína-2)

El HER-2/neu es un receptor de membrana de 185-kDa, con actividad de tirosinquinasa. El gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 (q11-21). La activación del receptor implica la emisión de señales intracelulares que se transmiten al núcleo y activan la proliferación celular. Se expresa a bajo nivel en células epiteliales normales, incluyendo las células del epitelio ductal de la mama normal. La sobreexpresión de la proteína Her-2/neu en la membrana de las células tumorales depende de la amplificación del gen, ocurre en un 10-20% de los CM⁵⁷. Es uno de los factores responsables de la proliferación excesiva e incontrolada de las células tumorales.

Su presencia indica peor pronóstico, peor respuesta al tratamiento con CMF, mayor sensibilidad al tratamiento con antraciclinas y peor respuesta al tratamiento hormonal con tamoxifeno⁶⁵. Las pacientes con sobreexpresión de la proteína Her-2/neu pueden beneficiarse del tratamiento con anticuerpos anti-Her-2

(trastuzumab/herceptin), tanto en estadios iniciales como en enfermedad metastática^{66,67}. Estudios recientes indican que la administración de trastuzumab en adyuvancia reduce el riesgo de recidiva tumoral a la mitad y la mortalidad en una tercera parte de los pacientes con cáncer de mama en fases iniciales⁵⁷. Es por ello que la determinación de Her-2/neu en las biopsias de cáncer de mama es esencial y obligatoria para la selección del tratamiento adecuado⁵⁹.

La valoración de HER-2/neu se puede realizar mediante IHQ, técnicas de hibridación *in situ* (FISH, CISH, SISH) y rt-PCR⁶⁸.

La sobreexpresión de la proteína HER-2/neu se determina mediante IHQ, siendo de especial importancia los factores preanalíticos (fijación del tumor, la técnica de inmunotinción), la elección de anticuerpo y la interpretación de los resultados. En la actualidad se utilizan las guías establecidas por la American Society of Clinical Oncologists (ASCO) y el College of American Pathologists (CAP) en 2007. El resultado IHQ de expresión Her-2/neu puede ser negativo (0, 1+), dudoso (2+), o positivo (3+). Si la expresión es moderada (++) debe comprobarse si está amplificado mediante técnicas de inmunofluorescencia (FISH)⁶⁹. Estas guías requieren la validación de la técnica de IHQ, documentando una concordancia de 95% entre los resultados 3+ por IHQ y la amplificación por FISH⁷⁰.

MARCADORES DE PROLIFERACIÓN CELULAR

La valoración de la actividad proliferativa del tumor es un factor de valor pronóstico. Se han estudiado distintos métodos de valoración. El método más utilizado es la valoración inmunohistoquímica del antígeno Ki 67.

El *antígeno Ki 67* es una proteína nuclear que se detecta en las células tumorales en fase proliferativa (G1 tardía, M, G2), pero no en las que están en fase de reposo (G0) o en fase proliferativa inicial (G1 inicial). Se estudia mediante tinciones inmunohistoquímicas con el anticuerpo MIB-1, que detecta el antígeno Ki 67 a nivel del núcleo⁷¹. En los carcinomas infiltrantes ha sido utilizada para estratificar los casos en categorías de buen o mal pronóstico, especialmente dentro de los tumores RE+⁷². También se ha observado correlación con el grado de respuesta a la quimioterapia^{73,74}. No se ha establecido de forma absoluta el valor que permita distinguir entre tumores de baja actividad proliferativa y alta actividad proliferativa. Sin embargo, la mayoría de los

estudios lo sitúan entre el 10 y 20% de las células con positividad nuclear. En la práctica consideramos tumores con alta actividad proliferativa los que presentan 20% o más de las células positivas⁵⁷.

En general un alto índice Ki 67 se asocia a otros factores que indican mal pronóstico por su correlación positiva con el índice mitótico y el grado histológico, y una correlación negativa con la expresión de los receptores hormonales⁷⁵.

La detección IHQ de Ki 67 se correlaciona con la expresión del gen Ki 67 en el tumor⁷⁶.

TISSUE MICROARRAYS

Los continuos avances en biología molecular y genética han creado la necesidad de estudiar de manera simultánea un número importante de muestras tisulares.

Las técnicas convencionales de patología molecular son complejas, requieren mucho tiempo y mucho tejido, limitando así, el número de tejidos y el número de marcadores que pueden ser evaluados. Por lo tanto se han desarrollado métodos menos complejos y que requieren menos tiempo. Entre estos, encontramos los cDNA microarrays (micromatrices de cDNA) y los "tissue microarrays" (TMAs), o micromatrices de tejido. La técnica de cDNA microarrays permite estudiar los cambios en la expresión de un gran número de genes en una sola muestra tumoral, y los tissue microarrays permiten valorar las alteraciones genéticas bien a nivel del DNA, RNA o en las proteínas por ellos producidas en series amplias de un mismo tumor.

Basándose en un sistema original de Battifora⁷⁷ introducido en 1986, Kononen y colaboradores⁷⁸ describieron en 1998 un método que permite el estudio de centenares de muestras de tejido en una sola sección. Mediante un instrumento específicamente diseñado para este proceso (Beecham Instruments Tissue Arrayer) se transfieren cilindros de tejido procedentes de áreas morfológicamente representativas de diversos bloques de tejido "donantes", a un único bloque de parafina "receptor". Estos cilindros se encuentran cuidadosamente ordenados en filas y columnas que permiten su localización e identificación (Figura 1).

Los TMA pueden contener, desde algunos centenares hasta un millar de cilindros, dependiendo del diámetro de las agujas utilizadas para su obtención (habitualmente 0,6 mm.). Como se recomienda en diversos estudios de validación, para estudiar un tumor,

cada TMA debe incluir un mínimo de tres réplicas de las distintas muestras de tejido tumoral con la finalidad de que éste se encuentre adecuadamente representado, tanto cuantitativamente como cualitativamente^{79,80}.

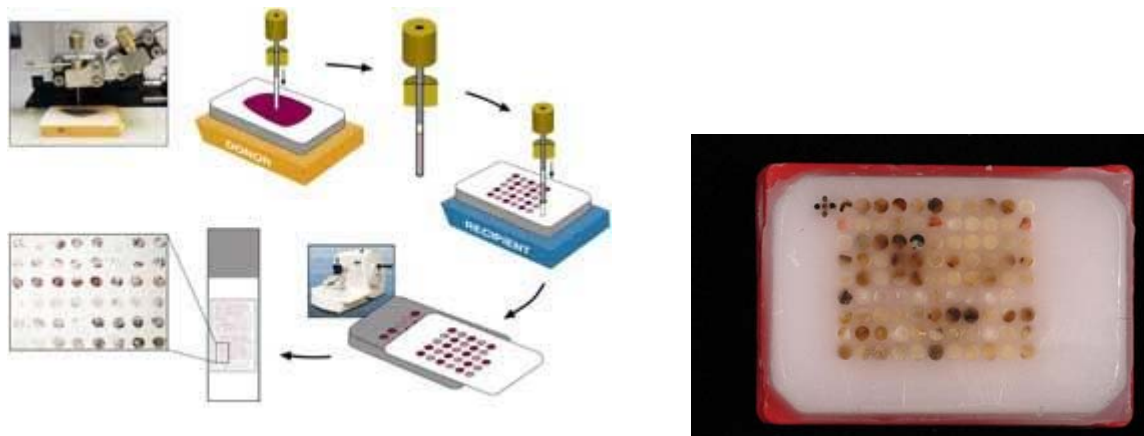


Figura 1: Esquema de procesamiento y elaboración de los Tissue MicroArrays.

Referente a su validación en patología mamaria, en el año 2000, Gillett y cols⁸¹. efectúan un estudio de la expresión de receptores de estrógenos (ER) y progesterona (PR) en CM comparando su expresión respecto a la de tejidos en bloques enteros y la expresión obtenida de tres cilindros. Se demuestra una alta representatividad de los marcadores inmunohistoquímicos en los cilindros del TMAs. Las mayores discrepancias se encontraron en los tumores más heterogéneos.

Ese mismo año, Camp y cols⁸². realizan un estudio también en CM evaluando la expresión de ER, PR y Her2/Neu, para valorar cuantos cilindros eran representativos y evaluando como influye el paso del tiempo en la expresión de los marcadores. Encuentran que el porcentaje de positividad era acorde en los cilindros y las secciones completas, sin cambios significativos en la positividad de tinciones antiguas.

Una vez elaborados, los TMA permiten la evaluación simultánea de gran cantidad de muestras y pueden ser utilizados para el análisis de numerosos marcadores moleculares, así como para la detección y el estudio de forma paralela de DNA (por hibridación in situ o FISH), RNA y proteínas diana (inmunohistoquímica)⁷⁹ (Figura 2).

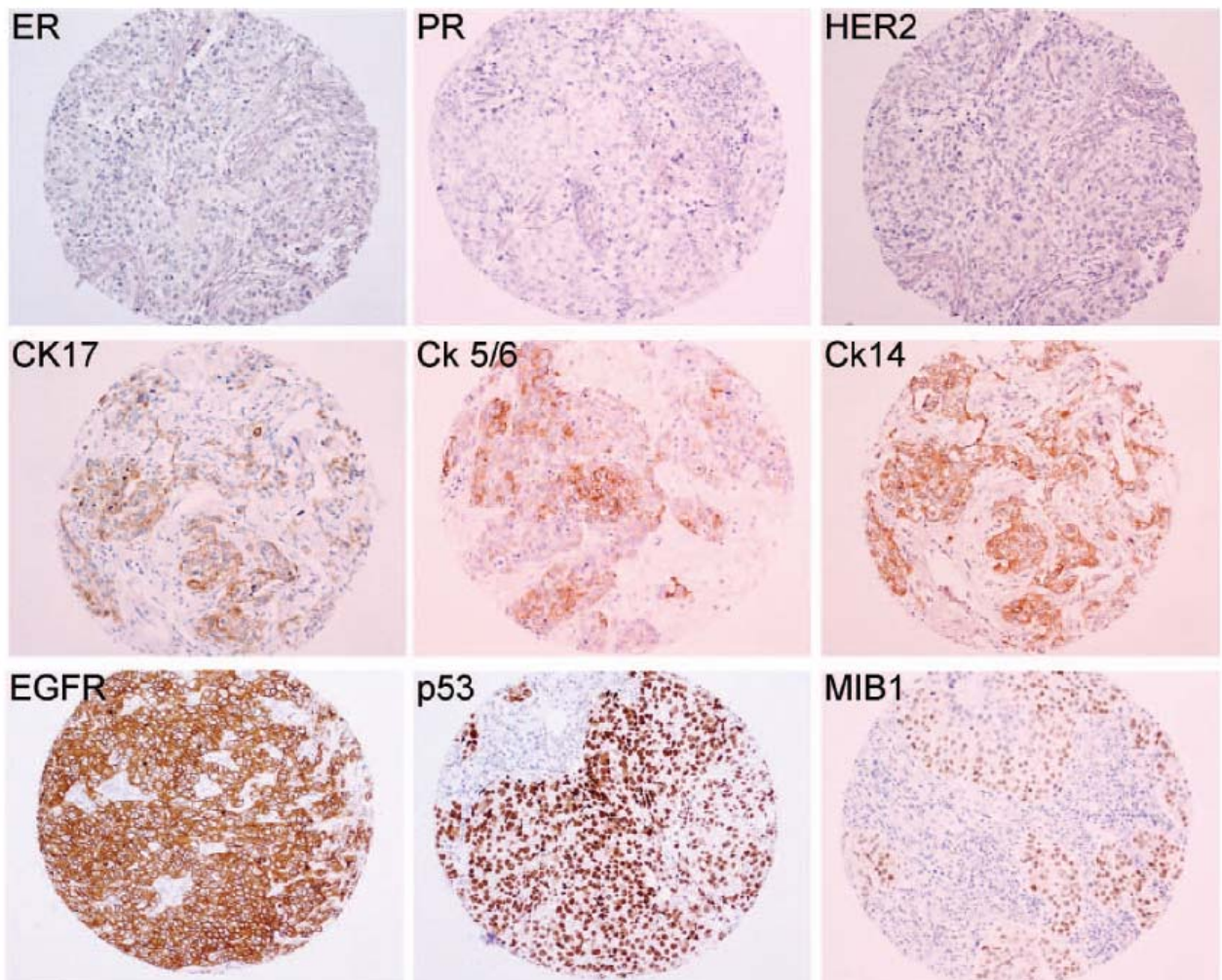


Figura 2: Estudio de TMA (x100): Perfil inmunohistoquímico característico del CM basal-like. Casi todos serán negativos para receptor de estrógenos (RE), de progesterona (RP) y HER2. La expresión de citoqueratinas basales se encuentra en >75% de los CM triple negativos. El EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) se expresa en aproximadamente la mitad de estos tumores. La expresión nuclear de p53 se encuentra en la mayoría de los casos. Los CM basales tienen los índices Ki67 (MIB1) más altos de todos los subtipos moleculares de CM.

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CM

Organización de la glándula mamaria: tipos celulares

Para comprender la nueva “taxonomía” molecular propuesta como clasificación del CM, es necesario recordar brevemente la organización anatómico-funcional de la glándula mamaria. Este órgano se compone de un sistema ducto-glandular incorporado en un estroma de tejido conectivo y graso que se extiende desde el pezón hacia los conductos.

Las células epiteliales mamarias están organizadas en estructuras tubulares tridimensionales con una marcada morfología polarizada, hay contacto directo entre las células especializadas y uniones específicas con la membrana basal subyacente.

Las estructuras tubulares están tapizadas por dos capas celulares: la capa epitelial localizada en la luz del ducto (células luminales) y la capa mioepitelial, en contacto con la membrana basal, que la separa del tejido estromal periglandular⁸³ (Figura 3).

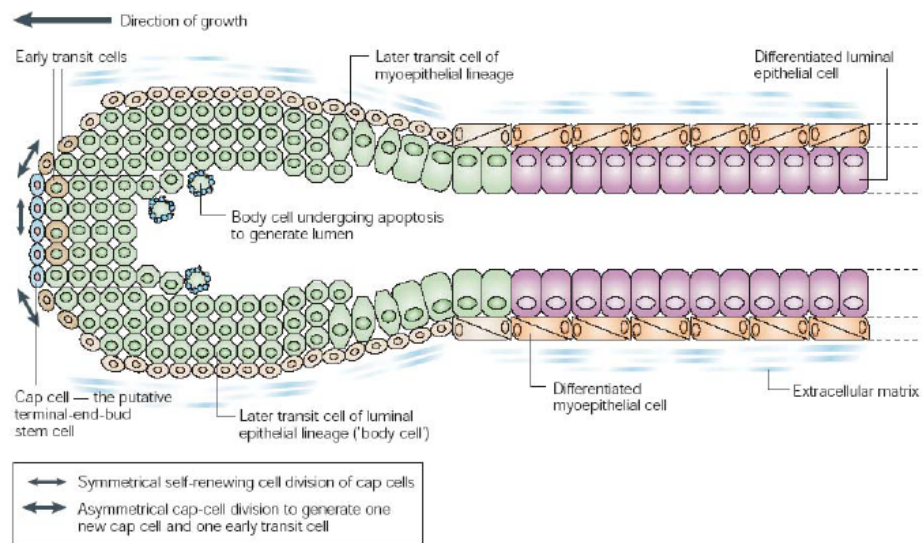


Figura 3: Representación esquemática de la unidad ducto-lobular, donde se pueden apreciar las poblaciones celulares luminal y basal o mioepitelial

Las células mamarias son identificadas por la expresión diferencial de citoqueratinas (CK): las células luminales epiteliales son caracterizadas por la expresión de CKs 8, 18 y 19, mientras que las mioepiteliales expresan CKs 5/6, 14 y 17. En ocasiones estas CKs mioepiteliales también pueden ser encontradas en células epiteliales, como ocurre con otros marcadores mioepiteliales: vimentina, actina de músculo liso, TP63, CD10 y proteína S100 entre otros⁸ (Figura 4).

De forma intuitiva se ha considerado que esta capa basal podría ser el linaje de origen del CM de Tipo Basal, aunque esta relación es prematura y podría no ser correcta.

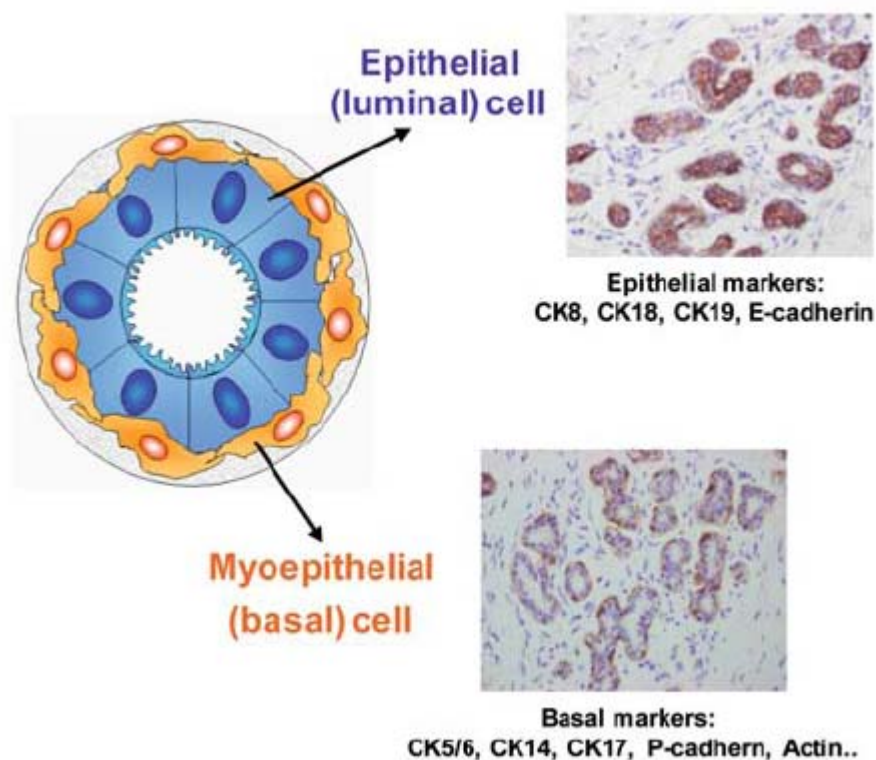


Figura 4: Tipos celulares componentes de un ducto mamario, con expresión de algunos de los marcadores epiteliales (luminales) o mioepiteliales (basales).

Muchos estudios experimentales han demostrado la presencia de stem cell mamarias en ratones y humanos, y aunque sus características inmunofenotípicas no están todavía bien definidas, podrían estar correlacionadas con la expresión de algunas proteínas como CK 19/14, EpCAM, CD49f y SSEA-4, y la falta de expresión de MUC1 entre otras⁸⁴. Estas stem cells pueden dar origen a ambos tipos celulares: epitelial y mioepitelial. Su existencia podría explicar los cambios morfológicos y funcionales que ocurren en la glándula mamaria normal durante la pubertad, embarazo, lactancia, y en menor grado durante cada ciclo menstrual de la vida fértil de la mujer adulta.

¿Por qué una nueva clasificación?

Tradicionalmente los CM infiltrantes han sido clasificados fundamentándose en un doble concepto anatómico e histológico: estadificación anatómica mediante la clasificación TNM y caracterización patológica de tipo histológico, grado y expresión de marcadores inmunohistoquímicos. Esta clasificación del CM permitía predecir la historia natural de la enfermedad de una manera bastante aproximada, y apoyándonos en ella y

en otros factores pronósticos clínico-patológicos (edad, estado menopáusico, invasión linfovascular...), nos ayudaba a adoptar una decisión terapéutica.

Con el avance en los conocimientos sobre la biología de la enfermedad y la aparición de nuevos tratamientos sistémicos más activos, esta clasificación se quedó insuficiente, y se demostró que no era perfecta en su capacidad pronóstica y predictiva de respuesta a dichos tratamientos. Pacientes con idénticos parámetros clínico-patológicos podían presentar una evolución clínica muy diferente y responder al tratamiento, también, de forma muy diferente. Utilizando un modelo matemático convencional basado en factores pronósticos tradicionales⁸⁵, encontramos que un tumor de bajo riesgo (menor de 1 cm, sin afectación ganglionar, RE+ y de bajo grado) tiene un riesgo de recaída del 15%, mientras que un tumor de alto riesgo (mayor de 5 cm, con afectación ganglionar múltiple, RE- y de alto grado) comporta un riesgo de recaída del 85%. Es decir, que en las circunstancias clínicas más favorables, las predicciones basadas en los factores convencionales tienen un error de un 15%. Como resultado, muchas pacientes con enfermedad en estadio precoz serán tratadas con terapias tóxicas que no necesitarían, y en otras etiquetadas como de pronóstico favorable quedaría enmascarado su verdadero riesgo.

En la práctica habitual, las guías elaboradas en reuniones de consenso de expertos como las de Sant Gallen⁸⁶ o NIH⁸⁷ (national Institutes of Health), o herramientas como Adjuvant Online⁸⁸; son utilizadas con frecuencia por los oncólogos para decidir qué pacientes serán candidatas a recibir quimioterapia. Los parámetros pronósticos clásicos utilizados en estas guías, por lo anteriormente mencionado, son insuficientes para reflejar la heterogeneidad y complejidad del CM, y por tanto para optimizar la individualización del tratamiento de cada paciente.

La secuenciación completa del genoma humano y el desarrollo paralelo de métodos de alta tecnología como los microarrays de cDNA (ADN complementario) han abierto una nueva era de aproximación a la medicina molecular oncológica, para tratar de caracterizar el CM de acuerdo a sus características moleculares y genéticas. Particularmente, los microarrays de cDNA, permiten analizar en una simple muestra tumoral la expresión de miles de genes simultáneamente⁸⁹. De esta manera se puede obtener una “fotografía” de los genes que están activados en una célula tumoral, obteniéndose una información mucho más completa y detallada, ya que proviene no de

un único marcador o gen, sino de multitud de ellos. Así se obtiene el perfil de expresión de ARNm de un tumor, incluso aunque ignoremos las relaciones o la función de los genes examinados. Con la ayuda de programas informáticos se pueden agrupar aquellos genes cuya expresión esté alterada (agrupamiento jerárquico) y representar los resultados en un dendrograma⁹⁰. (Figura 5).

Los perfiles de expresión génica han revelado la diversidad biológica que existe en el CM. Las diferencias de comportamiento y de respuesta a terapias de casos semejantes en cuanto a factores pronósticos habituales, pueden ser explicadas por los perfiles de expresión génica, y por tanto, en base a estos, se puede reclasificar el CM en diferentes subgrupos que deben ser conocidos y manejados como entidades diferentes^{91,92}.

La primera clasificación del CM basada en los perfiles de expresión génica fue publicada por Perou y cols.³, de la Universidad de Stanford, en el año 2000. Estos autores analizaron los patrones de expresión genómica de muestras de tejido de 42 pacientes, incluyendo 36 carcinomas ductales infiltrantes de todos los grados, 2 carcinomas lobulares, un carcinoma ductal in situ, 1 fibroadenoma, y 3 muestras de tejido mamario normal y se hizo doble muestreo (antes y después de quimioterapia) en 20 de los 40 tumores. Mediante un análisis por agrupamiento jerárquico sin conocimiento previo de los datos clínicos, identificaron un conjunto de 496 "*genes intrínsecos*", muy variables en expresión en los tumores de diferentes pacientes pero mínimamente variables entre las muestras de tumores del mismo paciente, que sirvieron como base para su clasificación. Utilizando estos "genes intrínsecos", según la similitud de su nivel de expresión, clasificaron los tumores en dos grupos principales: a) un primer grupo caracterizado por un elevado nivel de expresión de genes que normalmente están expresados en las células luminales o superficiales del epitelio mamario (*tumores Luminales*: con expresión inmunohistoquímica de RE); y b) un segundo grupo de tumores (sin expresión inmunohistoquímica de RE). Dentro de este grupo en un subtipo se expresaban genes habituales en las células basales y mioepiteliales del epitelio mamario normal (*tumores Basales*: RE negativos y positividad inmunohistoquímica para citoqueratinas 5/6 y 17). Se piensa que los tipos de CM basal y luminal reflejan diferente origen celular, pero todavía se necesita más investigación para corroborar este aspecto. También fueron identificados otros dos subtipos de tumores. Uno caracterizado por una fuerte *expresión de HER2* y baja de RE y sus genes relacionados; y otro grupo que

mostró un perfil de expresión génica *similar al tejido mamario normal*. En resumen, el patrón de expresión de estos genes en las muestras analizadas tendía a clasificar en dos grupos principales (subgrupos RE+ y RE-), indicando que el estatus de expresión de RE es el principal discriminante de las firmas moleculares, corroborando así la hipótesis mantenida durante largo tiempo que afirmaba que los CM RE+ y RE- eran carcinomas diferentes⁹³.

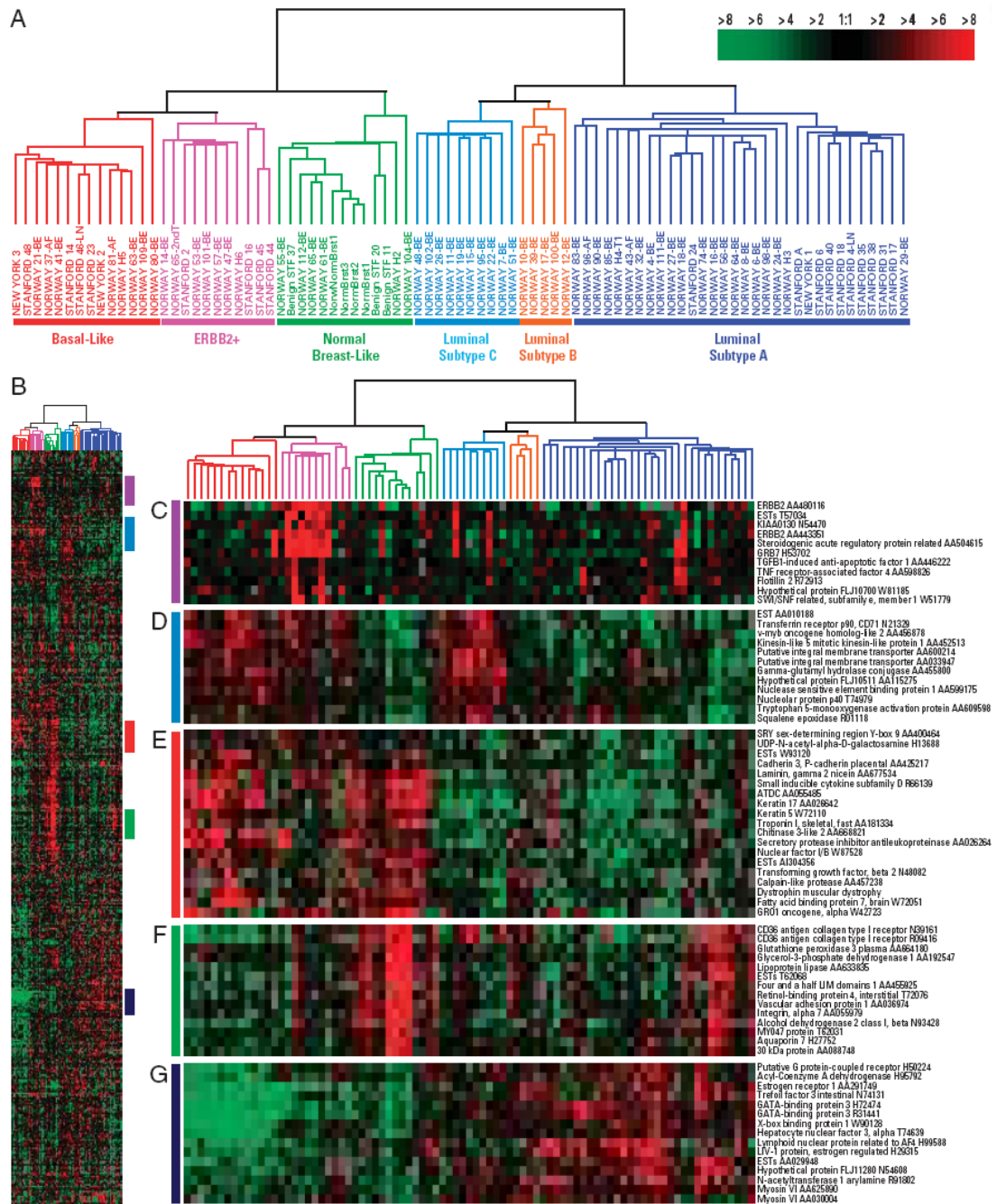


Figura 5: Análisis por agrupamiento jerárquico de los patrones de expresión génica de 85 muestras (78 carcinomas, 3 tumores benignos y 4 tejido normal) utilizando un set de cDNA de 476 genes intrínsecos. **A:** Clasificación en subgrupos basada en las diferencias de expresión génica. **B:** visión global del grupo completo a menor escala. **C:** grupo de expresión de genes ERBB2. **E:** grupo epitelial-basal. **F:** grupo mama normal. **G:** grupo epitelial luminal que contiene RE. (modificado de Sorlie y cols.⁹⁴).

En un estudio posterior del mismo grupo de investigadores⁹⁴, se incluyeron un mayor número de tumores (78 casos) y se valoró la evolución clínica de las pacientes, correlacionándola con los distintos grupos de patrones de expresión génica. En este trabajo, los autores basándose en diferencias en el contenido de RE, perfiles de expresión génica y resultados, clasificaron el grupo Luminal epitelial / RE+ en: a) subtipo Luminal A, con mayor expresión de RE y genes regulados por estrógenos; y b) subtipo Luminal B (y también posiblemente un subtipo C), con expresión baja o moderada de genes luminales específicos, incluido el grupo de genes relacionado con el RE. También se analizó la distribución de mutaciones de p53 en los diferentes subgrupos. Se encontró una alta tasa de mutaciones de p53 en los subgrupos HER2 (71%) y Basal (82%), siendo menor en los subtipos Luminal A (13%) y Luminal B (40%). A pesar del número escaso de pacientes, el estudio de supervivencia mostró diferencias significativas en cuanto a supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad, entre los distintos subtipos moleculares de CM generados. Los subtipos HER2 y Basal se asociaron a supervivencias más cortas, Luminal A fue el grupo de pronóstico más favorable y Luminal B tuvo un pronóstico intermedio (Figura 6).

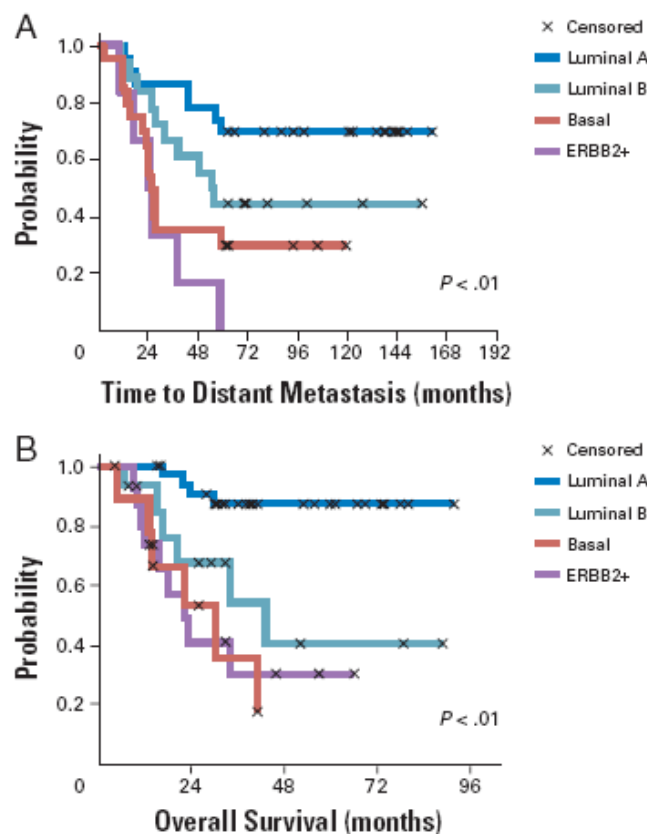


Figura 6: Curvas de Supervivencias libre de enfermedad (A) y global (B) de los diferentes subtipos moleculares (modificado de Sorlie y cols.⁹⁶).

En el año 2003, Sotiriou y cols.⁹⁵, utilizando una metodología similar obtuvieron resultados coincidentes con los del grupo de Stanford. Utilizando muestras de 99 pacientes con CM identificaron los perfiles de expresión génica que permitieron clasificarlos en los diferentes subtipos, y estos a su vez tuvieron un comportamiento clínico diferente, correspondiendo las tasas peores de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad a los subgrupos Basal y HER2.

Los subtipos moleculares identificados por estos trabajos fueron confirmados por otros investigadores en series independientes^{96,97} y entre diferentes grupos étnicos de pacientes⁹⁸. Los subtipos basados en los perfiles de expresión génica son coincidentes también entre los tumores primarios y sus lesiones metastáticas, incluso en aquellos casos que se desarrollan muchos años más tarde⁹⁹.

Hu y cols.¹⁰⁰, de la Universidad de Carolina del Norte, publicaron en 2006 un trabajo sobre 311 tumores de mama, utilizando solamente 306 de los 1300 genes intrínsecos presentes en las series previas. Aparte de los cinco grupos caracterizados previamente, describieron un posible nuevo grupo (STAT1) caracterizado por la expresión alta de genes regulados por interferón (IFN), con un pronóstico intermedio similar al grupo Luminal B. El análisis multivariante demostró que esta clasificación de subtipos intrínsecos añadía una información pronóstica valiosa e independiente de los factores pronósticos clínicos habituales.

Aparte de que las técnicas de investigación genómica no están disponibles en todos los centros, la utilización de un elevado número de genes para el estudio de las características genómicas de las muestras tumorales de CM complica su empleo para la rutina clínica¹⁰¹. Para ello algunos grupos han propuesto el estudio mediante plataformas con un menor número de genes (Mammaprint[®] (Agendia): estudio en muestras de tejido congelado de 70 genes; OncotypeDx[®] (Genomic Health): estudio en muestras de tejido en parafina de 21 genes) y validado su aplicación en la clínica^{102,103}. No se trata de catalogar los CM según la clasificación molecular, si no de que con estas herramientas podamos identificar aquellos tumores portadores de “firmas genéticas” de mal pronóstico dentro del grupo de pacientes de bajo riesgo de recaída de la enfermedad y optimizar el uso de la terapia adyuvante en éste¹⁰⁴.

En 2003, en la Universidad de Cambridge Callagy y cols.¹⁰⁵, plantean el salto de la genómica a la proteómica. Analizando los patrones de expresión de proteínas (13

biomarcadores evaluados mediante inmunohistoquímica) en secciones de tejido parafinado (TMA: Tissue Micro Arrays) en una muestra de 107 CM, sugieren unos marcadores de proteínas (RE, RP, HER2, HER1 y Citoqueratinas Basales) que pueden ser utilizados para estratificar los distintos subgrupos de CM. Proponen una clasificación basada en los perfiles inmunohistoquímicos de los CM que puede predecir su comportamiento biológico de forma similar a los perfiles de expresión génica.

En una serie posterior¹⁰⁶ y con un mayor número de tumores (1076 CM infiltrantes) se evaluaron 26 marcadores inmunohistoquímicos para cada una de las muestras. Llevando a cabo un análisis de agrupamiento jerárquico, se identificaron seis grupos de tumores, principalmente coincidiendo con los 5 subtipos previamente identificados. Los marcadores histológicos “clave” que diferían de forma significativa entre los tipos tumorales incluían el Receptor de Andrógeno, HER2, Citoqueratina 18, MUC1, Citoqueratina 5/6, p53, RE y E-Cadherina.

De esta forma, aunque el “gold standard” para identificar los subtipos de CM sea el estudio de los perfiles de expresión génica, mediante el estudio del inmunofenotipo (más asequible en la práctica clínica habitual y que permite el empleo de tejido en parafina) podremos extrapolar de una manera bastante aproximada los casos de CM a los diferentes grupos de la clasificación molecular^{2,59,107}.

Características morfológicas, moleculares, clínicas e implicaciones terapéuticas de los nuevos subtipos de Cáncer de Mama

En base a los estudios citados previamente, sabemos que la clasificación molecular del CM tiene implicaciones pronósticas, pero también tiene repercusión en la predicción de respuesta a los diferentes tratamientos, y quizá en el futuro nos sirva para descubrir nuevas vías o dianas terapéuticas¹⁰⁸. En la Tabla VIII se resumen las características más importantes de los nuevos subtipos de CM según la clasificación molecular.

SUBTIPO LUMINAL

Es el subtipo más frecuente de CM, y comprende tumores que expresan receptores hormonales y tienen patrones de expresión del componente epitelial luminal de la mama. Esto incluye expresión de citoqueratinas luminales 8/18, RE y genes

asociados con su activación (LIV1 y CCND1)^{3,95}. Como se mencionó previamente, existen al menos dos subgrupos principales: Luminal A y Luminal B con un perfil genético y evolución clínica diferentes^{94,95,96}.

El subtipo *Luminal A* se caracteriza por una expresión alta de genes que codifican receptores hormonales, representa el tipo de CM menos agresivo y también se correlaciona con una baja inestabilidad genómica¹⁰⁹. En este grupo se pueden incluir casi todos los carcinomas tubulares, cribiformes, coloides, lobulillares infiltrantes y ductales infiltrantes bien diferenciados (Grado 1). También los carcinomas ductales infiltrantes moderadamente diferenciados e indiferenciados (Grados 2 y 3, respectivamente) que expresan RE y/o RP, pueden ser incluidos en este subgrupo, aunque quizás el grado de diferenciación tumoral junto a otras características como el nivel de expresión de receptores hormonales o la tasa de proliferación podrían ayudar a subclasificar este heterogéneo grupo de tumores¹⁰⁹. Son tumores con bajos índices de recurrencia, buena respuesta al tratamiento con hormonoterapia, y que en general no se van a beneficiar del uso de agentes quimioterápicos¹¹⁰.

El subtipo *Luminal B* podría derivar de células progenitoras diferenciadas o de células cáncer stem RE-¹¹¹. Presenta una mayor inestabilidad genómica, y una mayor expresión de genes de proliferación, lo que parece correlacionarse con un pronóstico peor¹¹². Se encuentra con gran frecuencia en este subtipo (también en el tipo basal) la pérdida de heterozigosidad en el locus RB1, siendo menos frecuente en los subtipos Luminal A y HER2¹¹³. Su respuesta a la hormonoterapia no es tan efectiva como en el Luminal A, pero sí responden a los quimioterapéuticos convencionales. Existe un posible beneficio para el uso de inhibidores de aromatasa para este subtipo de pacientes, sin embargo faltan estudios que lo confirmen¹¹⁰.

SUBTIPO HER2

Los tumores con HER2 amplificado o sobre-expresado poseen una importante complejidad de alteraciones moleculares y genéticas y se asocian con una enfermedad metastática agresiva¹¹⁴. Aunque la sobre-expresión de HER2 afecta al crecimiento tumoral y a los procesos de invasión y metástasis, los mecanismos implicados no están claramente definidos en la actualidad. La mayoría de los CM HER2 son CDI grados 2/3 sin hallazgos morfológicos específicos¹¹⁵. Un importante porcentaje de estos tumores

presentan cambios apocrinos, lo que concuerda con la mayor frecuencia descrita de sobre-expresión/amplificación de HER2 en los CM apocrinos con respecto a los otros tipos histológicos¹¹⁶.

De acuerdo a los diferentes estudios de perfiles de expresión génica, los carcinomas HER2 fueron clasificados tradicionalmente como un subgrupo independiente de tumores RE-^{3,93,94,95,96}. En la actualidad se han definido dos grupos diferentes de tumores HER2, uno de los cuales expresa RE (subgrupo más próximo a Luminal B) y otro no (considerado el verdadero HER2). De hecho ambos subtipos muestran alteraciones cromosómicas diferentes y mientras que la amplificación de HER2 se detecta en un 35% de tumores RE-, sólo está presente en un 10-15% de tumores RE+¹¹⁷. Es, por tanto importante, hacer la salvedad de que este subtipo de tumores no se debe de confundir con los tumores que sobreexpresan clínicamente el receptor para HER-2 por inmunohistoquímica o bien por FISH, ya que muchos de éstos no expresan el gen para el array de HER-2 que define el grupo. En la práctica clínica, podemos considerar que son tumores con receptores hormonales negativos, y que en un 40 – 80% presentan mutación del TP53. Tienen una alta sensibilidad a agentes quimioterápicos tipo Antraciclinas y Taxanos, obteniendo en neoadyuvancia una alta tasa de respuestas patológicas completas en comparación con los Luminales. Este subtipo de tumores cuenta con una terapia blanco específica con anticuerpos monoclonales; el Trastuzumab que ha tenido un impacto positivo en la sobrevida de estas pacientes, a pesar de que su pronóstico no es bueno¹¹⁰.

SUBTIPO NORMAL

Este subtipo descrito originalmente en los trabajos que comenzaron la clasificación molecular del CM^{3,93,94,95,96}, no parece ser un subtipo verdadero. Posiblemente este último subtipo represente muestras de CM en las cuales el porcentaje de células normales está sobre-representado en la muestra tumoral, confundiendo así los resultados de los estudios de expresión génica¹¹⁸.

SUBTIPO BASAL

Por ser el tema de este trabajo, será tratado de forma más exhaustiva en los siguientes apartados de esta revisión crítica.

Subtipos Moleculares	Frecuencia (%)	Características
Tumores RE+	34-66	Expresión de receptores hormonales y marcadores luminales
<i>Luminal A</i>	19-39	Expresión máxima de RE (+++) y/o RPg (+), HER2 (-) Baja frecuencia de alteraciones cromosómicas Genes característicos: Rea, GATA-3, LIV-1 y CCND-1 CDI grados 1-2, tubular, cribiforme, lobular Bajo índice de proliferación (Ki67) Buen pronóstico Buena respuesta tratamiento hormonal y mala a quimioterapia
<i>Luminal B</i>	10-23	Expresión génica: niveles bajos/ medios de RE, genes relacionados con proliferación y ciclo celular, genes típicos de subtipos basales y HER2 Inmunohistoquímica: RE(+) y/o RPg (+), HER2 (+/-) Alta inestabilidad genómica Alto grado proliferativo (Ki67) Peor pronóstico Hormonoterapia y mejor respuesta a quimioterapia
Tumores RE-	30-45	Ausencia de expresión de receptores hormonales y niveles bajos de marcadores luminales
<i>Normal</i>	< 10	Expresión de genes característicos de células estromales Potencialmente debido a contaminación de tejido normal
<i>HER2+</i>	4-10	Amplificación/sobre-expresión del oncogen HER2neu Altos niveles de genes localizados en el amplicon HER2 (17q23) o fuera (TOP2A) Mutaciones: TP53 CDI grado 3, apocrinos, alto grado proliferación (Ki67) Alta frecuencia de afectación axilar y alto riesgo recurrencia Buena respuesta a quimioterapia, y terapia específica: Ac. monoclonal antiHER2: trastuzumab; inhibidores HER2 tirosin-quinasa: lapatinib
<i>Basal</i>	8-37	Expresión de genes típicos de células basales/mioepiteliales (CK5, CK17, CAV, laminina, c-KIT, P-cadherina, EGFR...) Mutaciones: BRCA1, TP53 Inmunohistoquímica: RE (-), RPg (-), HER2 (-), CK5/6 (+), y con frecuencia EGFR (+) Múltiples alteraciones genómicas Alto índice proliferativo (Ki 67) CDI grado 3, medular, metaplásico Mal pronóstico (frecuente enf. metastásica en cerebro y pulmón). Alto índice de recurrencia. Ausencia de tratamiento diana específico Buena respuesta a quimioterapia. Posible utilización de platino o inhibidores EGFR o PARP

Tabla VIII: Resumen de las principales características genéticas, patológicas y clínicas de los diferentes subtipos moleculares de Cáncer de Mama.

Limitaciones de la nueva clasificación molecular del Cáncer de Mama

A pesar de los prometedores resultados de los perfiles de expresión, todavía existen limitaciones a la hora de introducir esta nueva clasificación del CM, basada en criterios moleculares, en la práctica clínica¹¹⁹. Desde el punto de vista metodológico los estudios que han dado paso a esta nueva clasificación fallan en: ausencia de un método

estadístico para definir los subtipos –agrupamiento jerárquico no supervisado-, metodología no homogénea en cuanto a genes y número de los mismos analizados, muestras poco amplias. Lo que justifica en parte una variabilidad de resultados que implica que para que podamos tener una correcta utilización clínica se deberán analizar series más amplias de forma homogénea para facilitar la asignación de una muestra individual a un determinado subtipo tumoral⁹².

Por otra parte, todavía no se ha logrado una correlación exacta entre los diferentes subtipos moleculares y los que podemos identificar aplicando otras técnicas moleculares (como la inmunohistoquímica), por lo que, como veremos más adelante en referencia al carcinoma tipo basal, no existe uniformidad de criterios a la hora de definir mediante estas técnicas los diferentes subtipos de CM. Uno de los retos para los próximos años será el intentar integrar la nueva clasificación molecular del CM con las clasificaciones morfológicas establecidas y las alteraciones moleculares conocidas¹²⁰.

Subgrupos moleculares y su relación con las Stem Cells del Cáncer de Mama

El Cáncer de Mama se ha considerado tradicionalmente originado a partir de alteraciones genéticas que se producen en las células diferenciadas del epitelio luminal de la unidad terminal ducto-lobular. Sin embargo, en la actualidad, esta teoría se está cuestionando debido a la presencia de stem cells en el tejido mamario normal, las cuales tienen la capacidad de diferenciarse a células mioepiteliales y células del epitelio luminal^{121,122}.

Se ha propuesto un modelo jerárquico de diferenciación de la glándula mamaria del ratón, que probablemente tenga una gran similitud con la situación en humanos, en el cual una stem cell con las capacidades de autorenovación y diferenciación, derivaría hacia un progenitor común que posteriormente se diferenciaría a células progenitoras luminales y mioepiteliales con capacidad para diferenciarse en las células maduras específicas¹²³.

De manera similar a las neoplasias hematológicas, se ha sugerido un nuevo modelo de carcinogénesis mamaria en el cual los objetivos de la transformación neoplásica son las stem cells o progenitoras^{124,125}. Dependiendo de la acumulación de alteraciones moleculares en una célula progenitora específica y del estadio de

diferenciación donde se hayan producido, se derivará en el desarrollo de los diferentes tipos de CM⁹² (Figura 7).

Los *CM luminal A o B*, y quizás los *HER2+*, generalmente son tumores bien diferenciados que posiblemente deriven de la transformación de células progenitoras o células diferenciadas lumbinales¹²⁶.

El tipo de *CM basal* puede representar la transformación neoplásica de células indiferenciadas (comunes o precursoras precoces), que darían lugar a carcinomas pobremente diferenciados RE-, o con capacidad bifenotípica en algunos casos (carcinosarcomas)¹²⁶.

El fenotipo de stem cells CD44+CD24- se asocia al CM basal en humanos, especialmente en los portadores de mutaciones BRCA1, pero todavía su presencia no se ha correlacionado con el resultado clínico final¹²⁷. Se ha sugerido que los CM esporádicos y hereditarios pueden ser desarrollados a partir de disregulaciones en los procesos de autorrenovación de las stem cell¹²⁸.

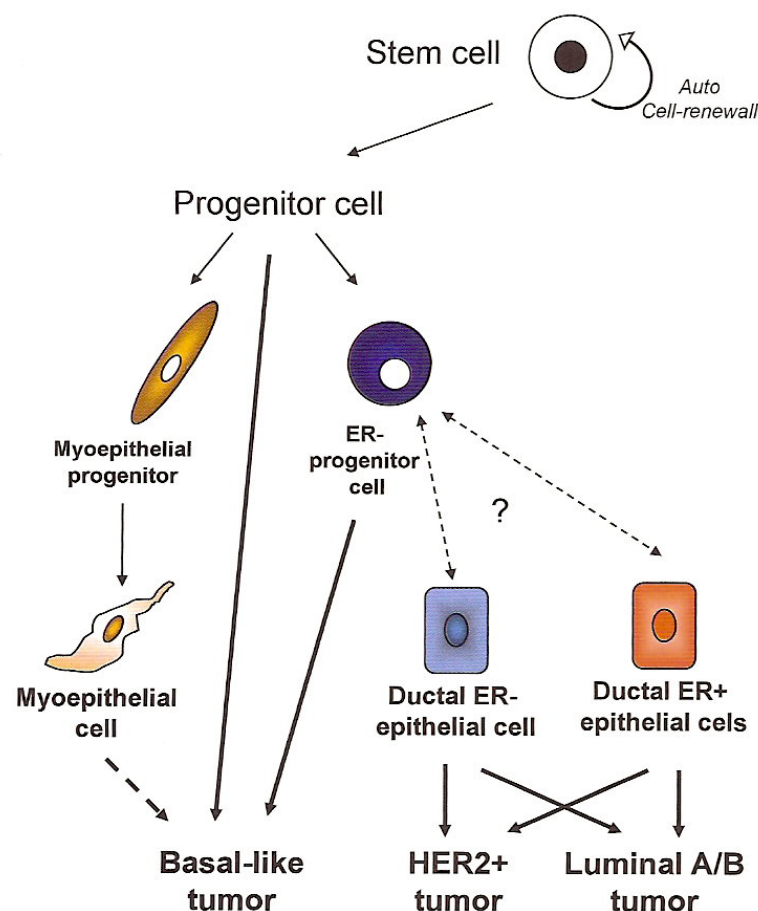


Figura 7: Modelo de desarrollo de la carcinogénesis mamaria, identificando el posible origen de los diferentes subtipos moleculares de Cáncer de mama. (modificado de Hergueta y cols.⁹²)

Korsching y cols.¹²⁶ plantean un modelo histogénético de la relación entre los diferentes subgrupos de CM invasivo, las stem cells y los diferentes cambios genéticos y fenotípicos en las células cancerosas (Figura 8). El solapamiento importante de los perfiles de expresión entre las células progenitoras fisiológicas y las células cancerosas, apoya la teoría de que los diferentes subtipos de carcinoma tienen origen en sus respectivos tipos fisiológicos. Sin embargo, la hipótesis de las stem cells se basa en la evidencia creciente de que las células stem fisiológicas órgano-específicas son el objetivo más importante en la patogénesis de los diferentes tumores. Ya que las stem cells tienen por definición una baja proliferación, las células progenitoras precoces serán la diana fundamental de la carcinogénesis. Múltiples alteraciones genéticas tendrán lugar en estas células, y en consecuencia se iniciarán diferentes programas de expresión celular, incluyendo el cambio de expresión de citoqueratinas que caracteriza a los diferentes subgrupos de CM.

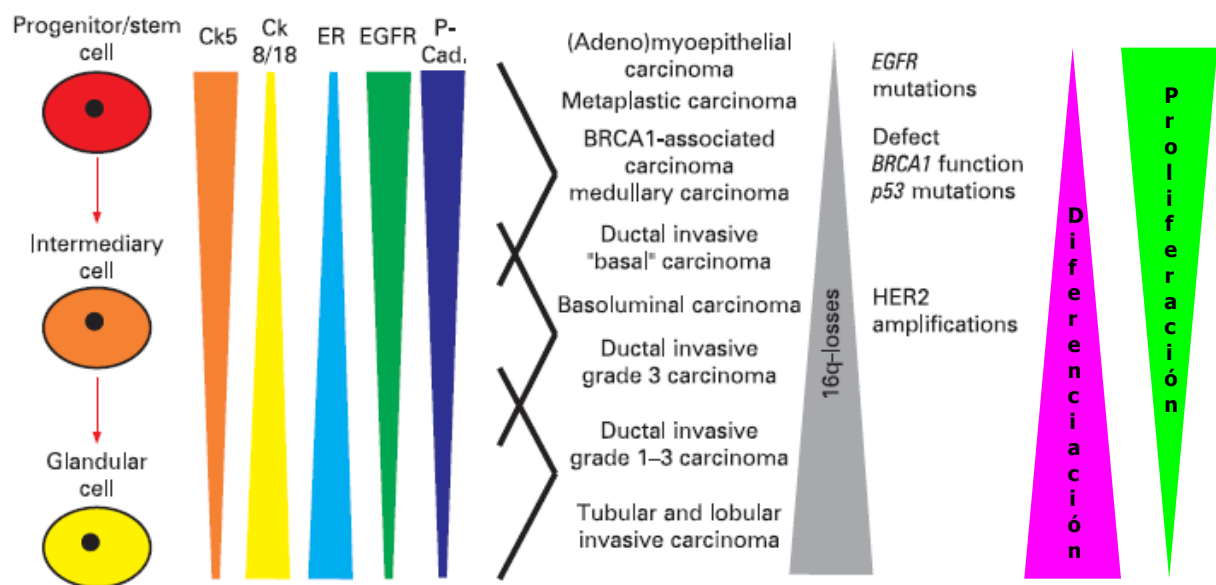


Figura 8: Asociación de los patrones de expresión inmunohistoquímica en los subgrupos celulares fisiológicos en la mama normal y en los diferentes subgrupos de Cáncer de Mama invasivo. (modificado de Korsching y cols.¹²⁶).

CARCINOMA DE MAMA TIPO BASAL

Antecedentes Históricos

Tradicionalmente, se ha reconocido durante varias décadas que un grupo de CM pueden mostrar diferenciación mioepitelial. Sin embargo, la evolución contemporánea de la categoría de CM que son denominados variablemente como "tipo basal", "basal", "basal-like", "fenotipo basal", o "basaloide" (CMTB) está intrínsecamente ligada a la expresión de citoqueratinas en subgrupos, que sirvieron hace más de dos décadas para la definición de CM de tipo basal¹²⁹.

En 1982, Moll y cols¹³⁰. catalogaron los patrones de expresión de citoqueratinas de una amplia muestra de carcinomas humanos. Siete de los 55 tumores estudiados eran CM y en estos, encontraron que 4 expresaban sólo citoqueratinas epiteliales simples tales como CK7, CK8, CK18 y CK19. Sin embargo los 3 tumores restantes expresaban, aparte de las mencionadas, otras citoqueratinas como la CK6. El desarrollo de las técnicas de inmunohistología permitió durante los años siguientes la localización precisa en la célula de estas queratinas.

Poco después se descubrió que la capa basal de la epidermis humana expresaba un subgrupo de queratinas, entre las que se incluía la CK5 y la CK14, de ahí la denominación de estas queratinas como "citoqueratinas basales"¹³¹. El descubrimiento posterior de la presencia de estas CK basales en las células mioepiteliales de múltiples tejidos glandulares, entre los que se incluyó la mama, incorporó con más fuerza esta denominación al léxico médico⁸. Varios estudios publicados en los años posteriores demostraron la expresión de queratinas basales entre 0-17,4% de los CM mediante técnicas de inmunohistoquímica¹²⁹.

Una implicación potencial en el pronóstico de la expresión de CK basales fue sugerida por Dairkee y cols. en 1987, quienes propusieron que el marcador basal se asociaba con recurrencias más precoces¹³². En los 13 años siguientes, hubo múltiples trabajos describiendo subgrupos tumorales que ahora podrían ser probablemente reconocidos como de tipo basal, aunque esa denominación específica apenas se usaba¹²⁹.

Domagala y cols., en 1990 describieron su experiencia con un grupo de CM que expresaban vimentina¹³³. La expresión de vimentina en sus trabajos se asoció a un empeoramiento de la supervivencia global a 5 años en pacientes sin afectación

ganglionar. Además estos tumores solían estar caracterizados por largas zonas de necrosis, un alto índice de proliferación, negatividad de expresión de RE y RP, y mayor tasa de tipos medulares. Estas características son claramente reconocibles en los CMTB, y la expresión de vimentina ha sido asociada al fenotipo basal⁶.

A partir de los estudios mediante perfiles de expresión génica que surgieron a partir del año 2000 (Perou³), se recobró el interés sobre este tipo de tumores, añadiendo la base genética para su evaluación como grupo y se iniciaron múltiples trabajos utilizando esta designación específica.

¿Qué es un Cáncer de Mama de Tipo Basal?

En la actualidad los CMTB son definidos por el perfil de expresión génica y/o inmunohistoquímica (IHQ). Debido a que la primera modalidad no ha alcanzado una aplicación ampliamente difundida en la utilización clínica rutinaria, la mayoría de los estudios han definido el CMTB mediante IHQ. Teóricamente, el tener una definición precisa de CMTB debería ayudar a estandarizar las investigaciones, crear un subgrupo uniforme de tumores así definidos, e incrementar la posibilidad de que cualquier hecho pronóstico o predictivo sea aplicado de manera uniforme no sólo a la gran mayoría, sino al grupo entero. Sin embargo, actualmente, *no hay un consenso internacional que precise el conjunto de marcadores que debe definir un CMTB*¹³⁴.

Las definiciones que han sido utilizadas por diferentes autores se encuentran resumidas en las TABLAS IX^{3,93-95,99,133,134} y X^{5,105,135-161}.

Autores	Definición	% CM definido como BASAL	Muestra de estudio
Perou y cols. (2000) ³	PEG / confirmación IHQ: CK 5/6 [+] y CK 17[+]	15	36 CDI, 2 CLI y 1 CDIS
Sorlie y cols. (2001) ⁹⁴	PEG	16.5	76 CM, 2 CDIS, 3 fibroadenomas y 4 muestras de mama normal
Sotiriou y cols. (2003) ⁹⁵	PEG	26.2	CDI: 46 N0 y 53N+
Sorlie y cols. (2003) ⁹⁶	PEG	15.2	114 CM, 2CDIS, 3 FAD, 4 MN
Rouzier y cols. (2005) ¹³⁵	PEG	26.8	82 CM de todos grados y TH
Calza y cols. (2006) ¹³⁶	PEG	14.3	412 CM de todos grados
Hu y cols. (2006) ¹⁰⁰	PEG	26	105 CM de todos grados y TH

TABLA IX: Definiciones y proporción de CMTB en diferentes estudios basados en la caracterización de perfiles genómicos con microarrays de cDNA. PEG: Perfiles de Expresión Génica. TH: Tipos Histológicos. IHQ: Inmunohistoquímica. CDI: Carcinoma Ductal Infiltrante. CLI: Carcinoma Lobulillar Infiltrante. CDIS: Carcinoma Ductal In Situ. CM: Cáncer de Mama.

Autores	Definición	% CM definido como BASAL	Muestra de estudio
Van de Rijn y cols. (2002) ¹³⁷	IHQ: CK 17 [+] y/o CK 5/6 [+]	16	564 CM de todos grados y tipos histológicos
Abd El-Rehim y cols. (2004) ¹³⁸	IHQ: CK 5/6 [+] y/o CK 14 [+] y/o SMA [+]	28.2	1852 CM de todos grados y tipos histológicos
Foulkes y cols. (2004) ¹³⁹	IHQ: CK 5/6 (+)	38.4	247 CM de todos grados y tipos histológicos
Jones y cols. (2004) ¹⁴⁰	IHQ: CK 14 [+]	21.2	418 CDI grado III
Nielsen y cols. (2004) ¹⁴¹	IHQ: RE [-], RP [-], HER2 [-], CK5/6 [+] y/o EGFR [+]	15	663 CM de todos grados y tipos histológicos
Ribeiro-Silva y cols. (2005) ¹⁴²	IHQ: CK 5 [+], CK 8/18 [-] IHQ: CK 5 [+], CK 8/18 [+]	4.9 13.7	102 CDI de todos los grados
Matos y cols. (2005) ⁵	IHQ: positividad al menos 1 de CK 5, p63, P-cadherina, y negatividad para RE y HER2/neu	7.6	168 CM de todos los grados
Abd El-Rehim y cols. (2005) ¹⁰⁶	IHQ: CK 5/6, CK 14, SMA y p63	17	1076 CM de todos grados y tipos histológicos (419 N+ y 654 N0)
Arnes y cols. (2005) ¹⁴³	IHQ: RE [-], HER2/neu [-] y CK 5/6 [+]	15.6	256 CM de todos los grados
Kusinka et al ¹⁴⁴ , Potemski y cols. (2005) ¹⁴⁵	IHQ: positividad para CK 5/6 y/o CK 17 y negatividad de RE y HER2/neu	21 – 24.6	97 N+ y 98 N0, CDI de todos los grados
Laakso y cols. (2005) ¹⁴⁶	IHQ: CK 5/14 [+], y/o p63 [+]	9	288 CDI de todos grados
Collet y cols. (2005) ¹⁴⁷	IHQ: CK 5/6 [+] y/o P-cadherina [+]	10-24	190 CM de todos grados y tipos histológicos
Fulford y cols. (2006) ¹⁴⁸	IHQ: CK 14 [+]	19.4	453 CDI grado III
Kim y cols. (2006) ¹⁴⁹	IHQ: positividad al menos 1 de CK 5, CK 14, EGFR, c-kit, y negatividad para RE, RP y HER2/neu	14,7	776 CM de todos grados y tipos histológicos
Ribeiro-Silva y cols. (2006) ¹⁵⁰	IHQ: CK 5 [+]	19	100 CDI de todos los grados
Banerjee y cols. (2006) ¹⁵¹	IHQ: positividad al menos 1 de CK 5/6, CK 14 y CK 17	17.4	282 CDI grado III
Rodríguez-Pinilla y cols.(2006) ¹⁵²	IHQ: positividad para CK 5/6 y/o EGFR y negatividad de RE y HER2/neu	12.8	545 CM de todos grados y tipos histológicos
Rakha y cols. (2006) ¹⁵³	IHQ: CK5/6 [+] y/o CK 14 [+]	18.6	1841 CM de todos grados y tipos histológicos
Rakha y cols. (2006) ¹⁵⁴	IHQ: CK 5/6 [+] y/o CK 14 [+]	18.6	1872 CM de todos grados y tipos histológicos
Carey y cols (2006) ¹⁵⁵	IHQ: RE [-], RP [-], HER2 [-], CK5/6 [+] y/o EGFR [+]	20	496 CM de todos grados y tipos histológicos
Hafty y cols. (2006) ¹⁵⁶	IHQ: RE [-], RP [-], y HER2 [-]	24	482 CM de todos grados y tipos histológicos
Siziopikou y cols. (2007) ¹⁵⁷	IHQ: CK 5/6 [+]	18	271 CM de todos grados y tipos histológicos
Rodríguez-Pinilla y cols. (2007) ¹⁵⁸	IHQ: CK 5/6 [+], y/o EGFR [+], y RE y HER2 [-]	11.9 47.1	227 CM esporádicos de todos grados 34 CM familiares de todos grados
Rakha y cols. (2007) ¹⁵⁹	IHQ: CK 5/6 [+] y/o CK 14 [+]	55.7	282 CM de todos grados y tipos histológicos RE (-), RP (-) y HER2 (-)
Fulford y cols. (2007) ¹⁶⁰	IHQ: CK 14 [+]	20	443 CDI grado III
Kurebayashi y cols. (2007) ¹⁶¹	IHQ: RE [-], RP [-], HER2 [-], CK5/6 [+] y/o EGFR [+]	8	793 CM de todos grados y tipos histológicos
Yang y cols. (2007) ¹⁶²	IHQ: RE [-], RP [-], HER2 [-], CK5[+] y/o EGFR [+]	12	804 CM de todos grados y tipos histológicos
Jumppanen y cols. (2007) ¹⁶³	IHQ: CK 5/14 [+]	13	445 CM de todos grados y tipos histológicos

TABLA X: Definiciones y proporción de CMTB en diferentes estudios basados en la caracterización fenotípica mediante inmunohistoquímica.

IHQ: Inmunohistoquímica. CDI: Carcinoma Ductal Infiltrante. CM: Cáncer de Mama.

La mayoría de autores han incluido en su definición, al menos en parte, inmunopositividad para CK5 o CK5/6¹⁶⁴. Otros marcadores que también se han nombrado como biomarcadores de CMTB incluyen: CK14, CK17, EGFR, vimentina, laminina, osteonectina, caveolina1, NGFR, c-kit, p63, P-cadherina y actina de músculo liso (SMA)¹⁶⁵. Algunos estudios requieren específicamente ausencia de inmunorreactividad para receptores hormonales RE, RP, y para HER2; mientras la mayor parte de los otros no necesitan este requisito. Las diferentes definiciones indudablemente afectan a la proporción de CM que son clasificados como basales y, por tanto, se puede estar enmascarando subclases con relevancia biológica. Por ejemplo, en el estudio de Potemski y cols., dependiendo de si la inmunonegatividad de RE es un criterio definitorio, la proporción de CMTB varía de un 24,6 a un 36,9%¹⁴⁵. De hecho, la frecuencia de fenotipo basal-like entre los CM RE(-), HER2(-), o triple negativo ha sido mayor del 50% en algún estudio¹⁵⁹. Por tanto, si se precisa o no de la carencia de inmunorreactividad para receptores hormonales, es un punto clave para la definición de CMTB.

Otra fuente potencial de resultados discordantes entre los estudios es relativa a si la co-expresión o no de queratinas luminales es aceptada dentro del espectro inmunofenotípico basal. Globalmente, entre el 62,3 al 100% de CMTB se ha encontrado coexpresión de queratinas luminales CK8 y CK18^{6,146}.

De las diferentes definiciones, también pueden derivarse implicaciones pronósticas. Rakha y cols. han descrito que el fenotipo mioepitelial "putativo" (SMA y/o p63 positivo) tiene un pronóstico diferente del fenotipo basal (CK5/6 y/o CK14 positivo)¹⁵³. Las células mioepiteliales se caracterizan por la expresión de CK5/6, CK14, p63, y SMA en su estado normal, pero a menudo pierden SMA en condiciones neoplásicas. Además la inmunorreactividad para SMA es posible que sea intrascendente para definir el CMTB. Entre los CM ductales grado 3, si la definición de CMTB incluye positividad para al menos uno de: CK5/6, CK14, y CK17, el fenotipo basal se asocia significativamente a un acortamiento de las supervivencias global y libre de enfermedad¹⁵¹. Esto demuestra que las inconsistentes definiciones del CMTB utilizadas en varios estudios pueden afectar de manera significativa los resultados obtenidos de los mismos.

Una importante fuente potencial de ambigüedad, en los estudios mencionados, con raras excepciones, es que la mayoría no aportan información de cómo se interpretaron las tinciones inmunohistoquímicas, no definen el porcentaje requisito o la intensidad de la tinción. En ausencia de tales especificaciones, no está claro si 1%, 5%, 10%, 50%, o más células positivas deberían estar presentes en un tumor para designarlo como CMTB y si diferentes niveles de positividad pueden correlacionarse con algún aspecto del comportamiento tumoral¹²⁹.

El basarse únicamente en el inmunoperfil CK5 o CK5/6 positivo para definir el fenotipo basal puede resultar en la infradetección de un subgrupo significativo de tumores. Hasta un 39% de los CMTB definidos genéticamente han mostrado negatividad para este marcador. Livasy y cols. estudiaron el inmunofenotipo de 18 CM que habían sido definidos como basales por perfiles de expresión génica. Noventa y cuatro %, 83%, 72%, 61%, 0% y 0% de estos tumores fueron positivos para vimentina, CK8/18, EGFR, CK5/6, RE y HER2 respectivamente⁶.

En otro estudio, Nielsen y cols., utilizando bloques de tumor incluidos en parafina construyeron microarrays tisulares y determinaron tinciones de IHQ con anticuerpos comercializados para RE, CK 5/6, EGFR y/o c-kit. De 21 tumores que habían sido definidos como basales por perfiles de expresión génica, encontraron que 13 (62%), 12 (57%), y 6 (29%), fueron positivos para CK5/6, EGFR y c-kit respectivamente. Todos los 16 tumores que habían tenido un inmunofenotipo: RE(-), HER2(-)/bajo, CK5/6(+) y EGFR(+) tuvieron un perfil de expresión génica de tipo basal. Basándose en este perfil inmunohistoquímico, con este panel de marcadores, tendríamos un 76% de sensibilidad y un 100% de especificidad para el perfil genético basal¹⁴¹.

Por tanto, en la actualidad no hay marcadores inmunohistoquímicos o grupos de marcadores que puedan detectar fiablemente todos los CMTB. Para propósitos de estudio, tiene que asumirse que aproximadamente un tercio de los CMTB se podrá perder si utilizamos un grupo pequeño de marcadores. No hay actualmente suficiente información para definir la especificidad diagnóstica de la inmunohistoquímica en este contexto. Sin embargo, los datos de los dos últimos estudios referidos^{6,141} sugieren que al menos para los carcinomas ductales, *el perfil: RE(-), HER2(-)/bajo, CK5/6(+) y/o EGFR(+), tiene un alto grado de especificidad diagnóstica para el CMTB.*

Características Clínicas del Cáncer de Mama de Tipo Basal

EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA BASAL

Múltiples trabajos han examinado la proporción del subgrupo basal con respecto al total de CM, con un rango de frecuencias que oscila entre un 8-37%^(Tablas IX y X). La variabilidad en la frecuencia encontrada en los diferentes estudios probablemente se deba a la diferente definición de fenotipo basal aplicada, y a la población de pacientes seleccionada para cada estudio (mayor proporción en estudios con más casos grado 3, o en estudios de casos de cáncer familiar)¹⁶⁶.

Carey y cols.¹⁵⁵, en el Carolina Breast Cancer Study evaluaron la distribución poblacional y las características clínicas de los distintos subtipos de CM (basal-like, HER2, luminal A y luminal B). Sobre un total de 496 CM, el subtipo basal representaba un 20% de los casos, y era más prevalente entre las mujeres afroamericanas premenopáusicas (39%), que en las mujeres afroamericanas postmenopáusicas (14%) y que en las mujeres de raza blanca (16%) independientemente de su edad. Kurebayashi y cols.¹⁶¹ en 793 pacientes japonesas encontró un marcado predominio del subtipo Luminal A, y sólo un 8% de CMTB lo cual contribuye al pronóstico más favorable de las pacientes con CM en este país.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

La *edad media* de las pacientes con CMTB oscila entre 47 y 55 años^{155,162}. No está claro si el CMTB afecta en mayor proporción a pacientes más jóvenes que los otros subtipos. Estudios realizados sobre una muestra considerable de CM encuentran una tasa significativa mayor de CMTB en pacientes más jóvenes y premenopáusicas en comparación con el resto de subtipos de CM^{136,139,142,150,155}. Por el contrario, no existen diferencias significativas en cuanto a la edad en los 804 pacientes del Polish Breast Cancer Study¹⁶².

También en este trabajo se encontró que existían diferencias con significación estadística entre los diferentes subtipos moleculares en referencia a la edad de la menarquia, edad al primer parto e índice de masa corporal en el subgrupo premenopáusico. Para todos estos parámetros, las pacientes con CMTB tenían los valores más bajos en comparación con el resto de subtipos (13 años, 23,7 años y 27,1

respectivamente). La asociación inversa con la paridad no se observó en los CMTB, mientras que el riesgo asociado a la historia familiar fue superior en este tipo tumoral¹⁶².

Los genes asociados con la proliferación celular están altamente sobreexpresados en los CMTB^{3,94}. Se ha sugerido que estos tumores pueden tener tasas de crecimiento extraordinariamente rápidas, y por ello, probablemente se encuentran en mayor proporción entre los denominados “cánceres de intervalo” (o detectados entre mamografías anuales de cribado)^{147,167}.

Desde el punto de vista de las técnicas de imagen, en mamografía los CMTB suelen manifestarse como masas mal definidas (Figura 9), con distorsión arquitectural, en ocasiones asociadas a calcificaciones tipo comedo, siendo más raras las lesiones espiculadas^{168,169}.

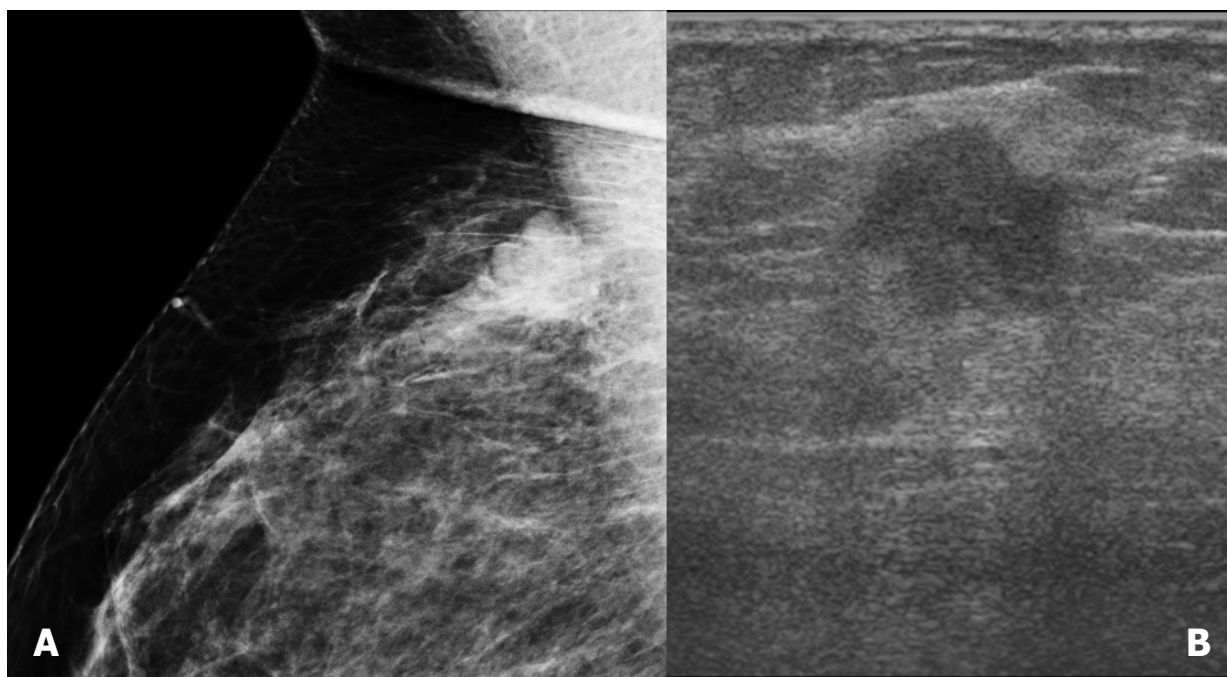


Figura 9: Paciente de 32 años con antecedentes familiares de CM y tumoración palpable en CSE de mama izquierda. **A:** Mamografía oblicua-lateral izquierda magnificada: nódulo mal definido de contorno microlobulado. **B:** Ecografía: nódulo de 1,8 cm. de contornos angulares. La BAG ecoguiada demostró un Carcinoma Ductal Infiltrante grado III con inmunofenotipo basal.

DISEMINACIÓN

La asociación entre CMTB y *afectación linfática axilar* varía entre los diferentes estudios. A este respecto, algunos autores no encuentran diferencias significativas al comparar con CM no basales^{136,144}, mientras que otros encuentran en los CMTB una menor probabilidad de afectación axilar^{149,160}. Estas discrepancias podrían ser atribuidas

a diferencias a la hora de definir el CMTB y/o a la existencia en los estudios de una mayor proporción de tumores grado 3 donde pueden encontrarse también tumores HER2 que tendrán mayor grado de afectación axilar^{134,170}.

En lo referente a la *diseminación a distancia*, hoy sabemos que es un fenómeno relativamente precoz en el desarrollo de un CM¹⁷¹, y que cada vez se conoce más acerca del “tropismo” o predilección de los diferentes tipos de CM por metastatizar en lugares diferentes¹⁷². Los CMTB presentan un patrón específico, mostrando una gran propensión a desarrollar metástasis viscerales en cerebro (Sistema Nervioso central) y pulmón (localizaciones asociadas a un peor pronóstico)^{173,174}, y menor predilección por metastatizar en hueso o hígado^{151,152,160,175}. A nivel del SNC, la mayoría de cánceres que desarrollan metástasis tienen receptores hormonales negativos y expresan un fenotipo basal o HER2^{176,177}.

PRONÓSTICO

El significado pronóstico del fenotipo basal-like no está tan claro como se suponía en un principio. La mayoría de estudios confieren al CMTB un pronóstico adverso, y tan sólo una pequeña proporción de trabajos encuentran un pronóstico similar o mejor que el resto de subtipos de CM^{145,149,160}. Las mayores discrepancias en cuanto al pronóstico parecen debidas, en su mayor parte, a las diferentes definiciones inmunohistoquímicas de CMTB que existen en los estudios.

Los estudios basados en perfiles de expresión génica mostraron desde un principio que las pacientes con tumores basal-like o HER2 presentaban tasas de supervivencias global y libre de enfermedad significativamente peores que los subtipos luminales^{94-96,100,136}. Es de destacar que el mal pronóstico que comparte el subtipo HER2 en estos estudios, probablemente mejorase si las pacientes hubiesen recibido tratamiento con trastuzumab, dejando así solo al grupo basal como el de peor pronóstico¹⁷⁸.

Posteriormente otras publicaciones también confirmaron el mal pronóstico del subtipo basal basándose únicamente en la IHQ como método de identificación del CMTB^{138,141,153,154,155}. En la mayoría de estos trabajos se encuentra una relación entre los tumores basales y otros factores de pronóstico desfavorable como mayor tamaño tumoral, alto grado histológico y nuclear, elevado índice mitótico o mayor frecuencia de

mutaciones de p53. En los análisis multivariantes se demostró que la expresión de CK 5/6 confiere un pronóstico adverso independientemente de los factores pronósticos mencionados previamente^{138,153}.

Rakha y cols.¹⁵⁴ en un estudio en el cual el panel multivariante incluía una lista mayor de variables pronósticas clásicas (grado histológico, estatus de afectación ganglionar, tamaño tumoral, estatus menopáusico, edad de la paciente, RE y HER2, y tratamiento adyuvante), encontraron una asociación significativa e independiente entre el fenotipo basal y las supervivencias global y libre de enfermedad más cortas, pero sólo en el grupo sin afectación ganglionar. En el subgrupo con afectación nodal, el fenotipo basal no era independiente del estatus RE o menopáusico en la predicción de la supervivencia. Hallazgos similares fueron confirmados por van de Rijn y cols.¹³⁷.

Algunos autores resaltan que el CMTB predice la reducción en la supervivencia específica de cáncer sobre todo en los 3-5 años siguientes al diagnóstico^{148,155}. En el estudio de Carey y cols.¹⁵⁵, las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de los subtipos HER2 y basal tienen una pendiente pronunciada, que parece estabilizarse en el CMTB después de los 5 años. Esto refleja un patrón de recurrencias diferente para los CMTB, en los que la mayoría de las recaídas tienden a producirse precozmente en los cinco primeros años de seguimiento.

Por otra parte, el fenotipo basal no sólo implica un mayor riesgo de recaída, sino que además se asocia a un curso evolutivo más agresivo tras la diseminación metastásica^{100,148}.

En cuanto al control local, a pesar del mal pronóstico del CMTB, no hay evidencia de que estas pacientes tengan un mayor riesgo de recurrencia local tras cirugía conservadora y radioterapia^{179,180}. Esto implica que son candidatas adecuadas, si existe indicación, para un tratamiento conservador de inicio o tras neoadyuvancia^{156,181}, pudiéndose también realizar éste mediante técnicas de cirugía oncoplastica^{182,183,184} y cirugía mamaria sin cicatrices¹⁸⁵ (Figura 10). No obstante esta opción terapéutica podría resultar subóptima en las pacientes con susceptibilidad familiar para CM. Las pacientes portadoras de mutaciones BRCA1 tienen un mayor riesgo de recurrencia local, de CM contralateral, y de cáncer de ovario tras el tratamiento conservador de su CM, por lo que se debe considerar la reducción de riesgo (mastectomías terapéutica y profiláctica) en su manejo quirúrgico^{186,187,188}.

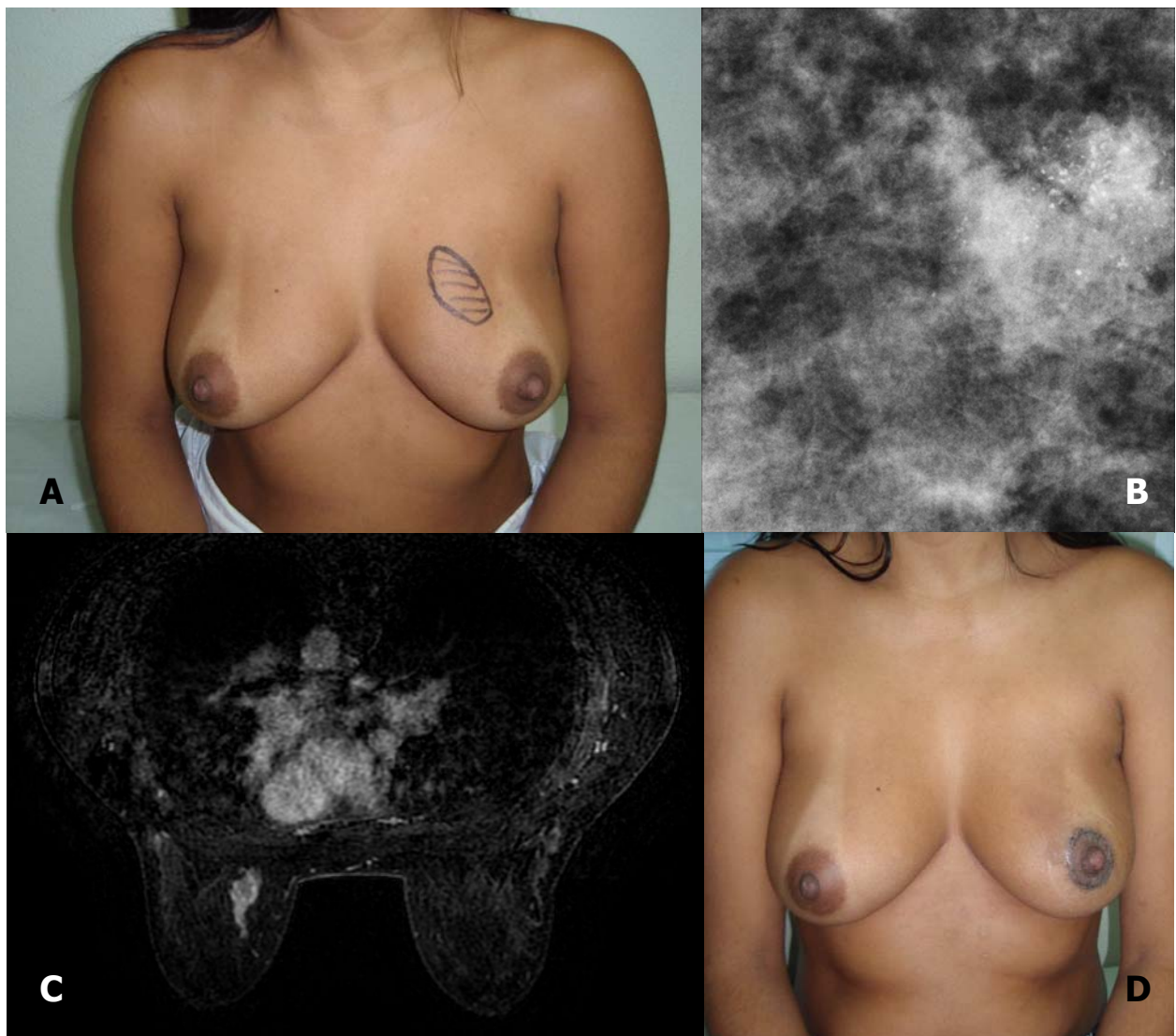


Figura 10: **A:** Paciente de 31 años, sin antecedentes familiares, con tumoración palpable en el CSI de la mama izda. **B:** Mamografía: nódulo mal delimitado asociado a microcalcificaciones heterogéneas, altamente sugestivo de malignidad (BI-RADS V). La BAG guiada por ECO demostró un Carcinoma Ductal Infiltrante grado III con inmunofenotipo basal (RE-, RP-, HER2-, CK5+) asociado a CDIS de alto grado. **C:** RM: nódulo mal delimitado de 2,2 cm. con imagen de captación lineal de 2-3 cm. en situación anterior. **D:** Segmentectomía (9x5,5x3,5 cm.) "scarless" vía periareolar, biopsia de ganglio centinela y linfadenectomía axilar por micrometástasis en el GC: Resultado postoperatorio a los 10 días.

RELACIÓN CMTB Y MUTACIONES BRCA1

Las pacientes con mutaciones en la línea germinal BRCA1 tienen un riesgo sustancialmente más elevado de desarrollar CM que el resto de la población¹⁸⁹. El gen supresor de tumores BRCA1 está implicado en múltiples funciones celulares, entre otras: regulación de la expresión de RE, proliferación celular, estabilidad cromosómica y reparación del DNA. La mutación del gen compromete estas funciones y predispone a las células a la transformación maligna.

Existe una fuerte asociación entre el fenotipo basal y la mutación BRCA1¹⁹⁰. Los tumores de mama originados en estas pacientes, sobre todo en las diagnosticadas antes de los 50 años, tienen unas características patológicas, expresión/alteración genómica y un perfil inmunohistoquímico muy similares a los CMTB^{191,192,193}. Lakhani y cols.¹⁹⁴, en un trabajo del Breast Cancer Linkage Consortium, comprobaron que en 182 pacientes con mutación BRCA1 había mayor expresión de marcadores basales que en el grupo control, y que la asociación de RE-, CK5/6+ y CK14 + comporta una alta probabilidad de tener una mutación BRCA1 (más de 35 veces superior al grupo control). Esta similitud con el CMTB, permite que este fenotipo nos pueda ayudar a identificar portadoras de mutaciones BRCA1 seleccionando pacientes para realización de test genéticos.

El origen de esta asociación, y de la mayor presentación de CMTB entre los CM asociados a BRCA1, es desconocido. Probablemente la disfunción BRCA1 también puede tener un papel importante en el desarrollo de todos los CMTB, familiares y esporádicos¹⁹¹. Algunos autores han propuesto que los CM asociados a BRCA1 surgen de la "stem cells" mamarias, las cuales expresan características basales¹⁹⁵, pero en la actualidad no existe evidencia que apoye o contradiga esta teoría.

Características Patológicas de los Cánceres de Mama de Tipo Basal

Las características patológicas que se describen y asocian a los CMTB no son específicas (generalmente se pueden observar también en tumores de alto grado -Figura 11-). La presencia de las mismas junto con la ausencia de RE, RP y HER2 debe de levantar la sospecha de un CMTB y en este caso se deberá proceder a estudios de IHQ para marcadores basales específicos.

Entre estas características podemos destacar:

TAMAÑO TUMORAL Y ACTIVIDAD PROLIFERATIVA

En los estudios basados en perfiles de expresión génica, apenas existen diferencias entre los diferentes subtipos moleculares en cuanto al tamaño tumoral^{95,100,136}. En los CMTB definidos por inmunohistoquímica se han encontrado resultados más variados, con varios trabajos en los que significativamente tiene tendencia a ser mayores que los CM no basales^{106,139,149,152,158}, y otros donde no se aprecia esta asociación^{140,142,144,146,150,151,160}.

Varios estudios han confirmado que los CMTB poseen índices de proliferación elevados y/o altas tasas de mitosis^{6,150,152,153,158,195}.

SUBTIPO HISTOLÓGICO

Desde un punto de vista morfológico, la mayoría (68-86%) de CMTB corresponden a carcinomas ductales infiltrantes sin ninguna característica histológica especial^{149,153}, salvo ocasionalmente que se manifiestan como formas tubulares mixtas¹⁷⁰.

Por otra parte, la mayoría de los carcinomas metaplásicos^{196,197}, o medulares^{198,199,200} muestran un fenotipo basal-like. El fenotipo basal es poco frecuente en otros tipos especiales de CM tales como el tubular, mucinoso, papilar o cribiforme y lobulillar¹⁵³. Se ha encontrado fenotipo basal entre un 5-28% de los carcinomas lobulillares^{138,201}, aunque no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre subtipo histológico (ductal versus lobular) y expresión de marcadores basales¹⁴⁷.

Con mucha menor frecuencia, y de manera sorprendente al tratarse de tumores de mejor pronóstico, se encuentra fenotipo basal en CM de bajo grado, como carcinomas adenoides quísticos²⁰², carcinomas secretores²⁰³ y adenomioepiteliomas²⁰⁴. Este mejor pronóstico relativo que poseen estos tipos especiales junto con los carcinomas medulares ilustra la heterogeneidad de los CMTB definidos por IHQ y subraya la necesidad de evitar extrapolar el resultado pronóstico de los CDI de tipo basal a los otros histotipos¹³⁴.

GRADO HISTOLÓGICO Y OTROS HALLAZGOS PATOLÓGICOS

Los CMTB son generalmente tumores de alto grado histológico. Entre un 75-100% de los CMTB se trata de tumores grado 3^{6,136,149,153}, los cuales están significativamente sobre-representados en comparación con los otros subtipos moleculares de CM.

Con cierta frecuencia muestran un borde tumoral de crecimiento expansivo ("pushing noninfiltrative borders"), necrosis geográfica central o tipo comedo y una respuesta linfocitaria estromal^{6,160,170}.

Son tumores densamente celulares, con escaso estroma intercelular, lo cual les confiere un aspecto sólido. Muestran un marcado pleomorfismo celular, ausencia de formación tubular, frecuentes células apoptóticas, nucleolos prominentes, elevada

relación núcleo-citoplasma y presencia frecuente de elementos metaplásicos (como metaplasia escamosa)^{134,148,153,170}.

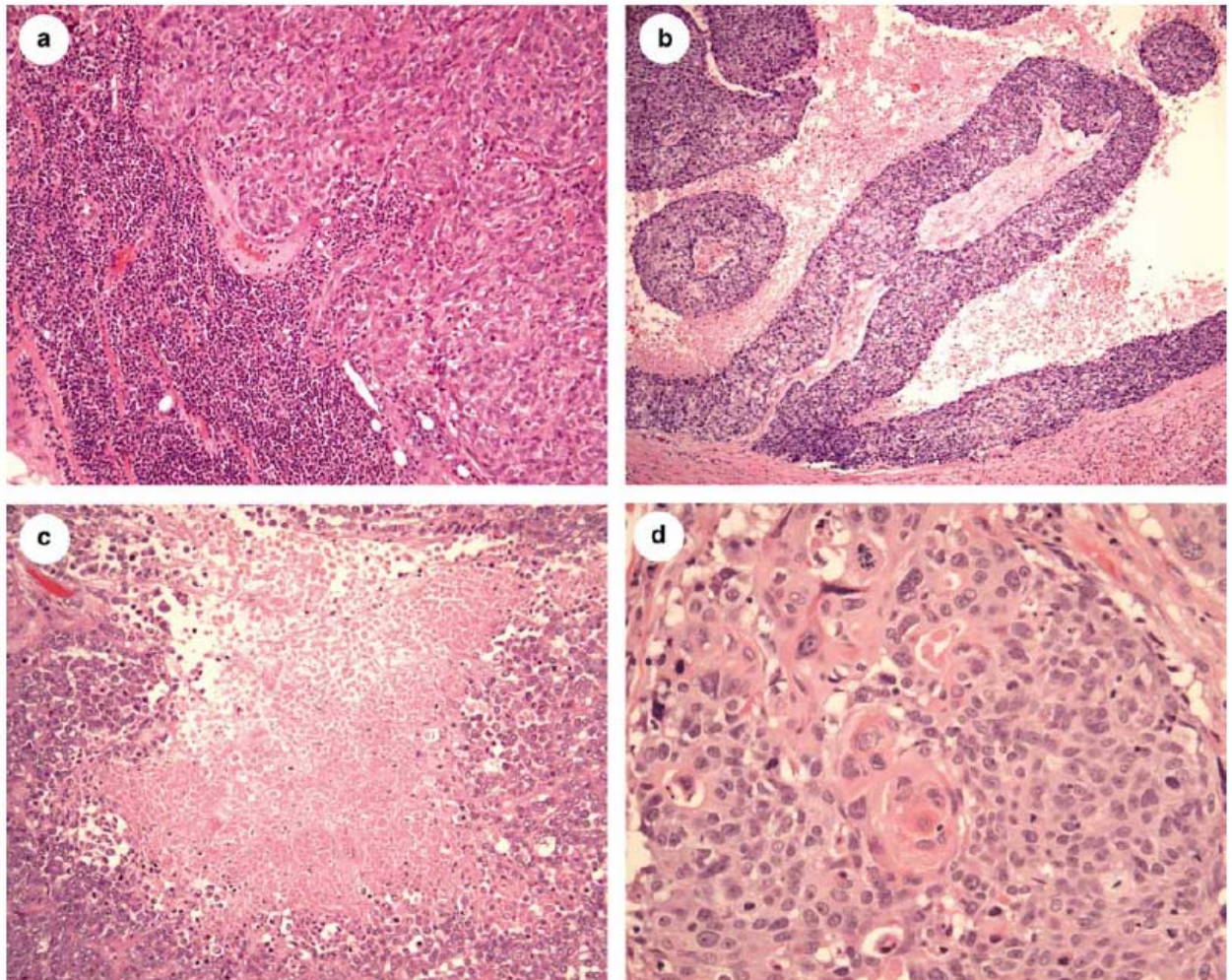


Figura 11: Características morfológicas de los CMTB⁶. **(a)** Algunos tumores muestran características medulares, incluyendo arquitectura sólida con “pushing margin” y respuesta linfocítica estromal importante (HE x200). **(b)** Otros tumores muestran características “en tiras” asociadas con necrosis central (HE x200). **(c)** Focos de necrosis geográfica frecuentes (HE x200). **(d)** Áreas de metaplasia escamosa en un carcinoma metaplásico (HE x400).

Aunque con menor frecuencia que los CM no basales¹⁴⁸, el CMTB puede estar asociado a CDIS. Generalmente se tratará de lesiones de alto grado y con patrón generalmente sólido, plano, o micropapilar, y que además demuestran el mismo inmunoperfil que el componente invasivo^{205,206}. Posiblemente este CDIS basal-like puede considerarse una lesión precursora del CMTB^{207,208}.

Implicaciones Terapéuticas del Cáncer de Mama de Tipo Basal

Al contrario de lo que ocurre con los tumores luminales RE+ o con los HER2+ (susceptibles de terapias dirigidas: hormonal y antiHER2), en la actualidad *no disponemos de tratamientos específicos ("diana") contra los CMTB*, por lo que la única opción terapéutica disponible para estas pacientes es la quimioterapia sistémica. Probablemente esta limitación terapéutica contribuye a empeorar su ya sombrío pronóstico.

No obstante, y paradójicamente por este peor pronóstico, estos tumores son más sensibles a la quimioterapia convencional, pudiendo mostrar una sensibilidad diferente a los distintos fármacos²⁰⁹. Rakha y cols. encontraron en tumores basales y con fenotipo triple negativo mejores resultados en cuanto a supervivencias global y libre de enfermedad tras el uso de quimioterapia adyuvante^{154,159}.

Carey y cols. estudiaron la quimiosensibilidad de 105 CM estadios II-III tratados con quimioterapia primaria con antraciclinas y taxanos. La respuesta clínica a antraciclinas y la respuesta patológica completa fueron superiores en los CMTB²¹⁰.

Rouzier y cols. en un estudio sobre 82 CM estadios I-III clasificados en base a sus perfiles de expresión génica y tratados con quimioterapia neoadyuvante con taxanos seguidos de antraciclinas, encontraron una tasa de repuestas patológicas completas del 45% en los grupos basal y HER2 que contrastaba significativamente con el 6% observado en los tumores luminales¹³⁵. Recientemente, se ha descrito una "firma de expresión génica" que puede predecir la respuesta de los CMTB al tratamiento quimioterápico primario²¹¹.

En la actualidad se están investigando potenciales dianas terapéuticas para estos tumores, como el EGFR y c-Kit. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR o HER1/c-erbB1) es un receptor del tipo tirosina-cinasa que desempeña un importante papel en procesos fisiológicos y también en la carcinogénesis al promover la proliferación y diferenciación celular, supervivencia y angiogénesis²¹². Su inhibición mediante anticuerpos monoclonales directos (cetuximab y panitumumab) o mediante inhibidores de la fosforilación del receptor (inhibidores tirosina-cinasa: gefitinib, erlotinib y sobre todo lapatinib -con acción también sobre HER2-), ha mejorado resultados en el tratamiento de otros tipos de tumores²¹³. El EGFR está frecuentemente sobre expresado en los CMTB (60-70%)¹⁴¹, y genéticamente amplificado en un subgrupo de carcinomas

basales (metaplásicos)²¹⁴. Posiblemente si se estudia mediante FISH, la amplificación del EGFR no es tan común como indica la inmunohistoquímica²¹⁵. De todas maneras, puede representar una potencial diana terapéutica cuya eficacia permanece en investigación^{110,157,216}.

También el c-Kit se expresa en una elevada proporción de CMTB, y ha sido bloqueado con éxito con imatinib en otros tipos de tumores¹⁶⁵. Sin embargo, estos hallazgos deben interpretarse con cautela, ya que en los CMTB c-Kit + se ha demostrado que no están presentes las mutaciones activadoras de c-Kit²¹⁷.

Dasatinib, un inhibidor de src, ha demostrado efectividad para el CMTB en modelos preclínicos, y podría ser útil en el manejo futuro de estos tumores. También están bajo evaluación clínica los nuevos tratamientos antiangiogénicos como bevacizumab o sunitinib¹⁶⁵.

Existe una evidencia creciente de que los defectos de reparación del DNA característicos de los CM relacionados con las mutaciones de BRCA1 (especialmente una defectuosa recombinación homóloga), confieren sensibilidad a ciertos agentes sistémicos, tales como las sales de platino y los inhibidores de la PARP (Poli ADP-Ribosa Polimerasa). Estos tratamientos, en fase de evaluación clínica, podrían ser relevantes para el tratamiento del CMTB^{178,218}.

En cuanto a la *Radioterapia adyuvante postmastectomía*, basándose en un estudio retrospectivo, los datos del estudio del grupo cooperativo danés de CM sugieren un menor beneficio a nivel de control local y supervivencia en los CMTB (y HER2) frente a los subtipos luminales, que deberá ser evaluado en futuros ensayos²¹⁹.

Cáncer de mama de Tipo Basal versus Cáncer de Mama Triple negativo

El CMTB es caracterizado por ciertos rasgos que incluyen el fenotipo triple negativo. Algunos autores han reivindicado que el grupo de CMTB se compone casi totalmente de tumores triple negativos^{220,221,222}, y que el fenotipo triple negativo podría ser fiable para identificar los carcinomas basales.

El hecho de que los tumores TN puedan ser identificados fácilmente en la práctica clínica de rutina (la detección inmunohistoquímica de RE, RP y HER2 forma parte del informe habitual del patólogo), la falta de consenso sobre la definición de CMTB, y la

carencia de conocimientos sobre los mecanismos oncogénicos y por tanto de dianas terapéuticas, han determinado que se hayan usado indistintamente ambos términos para definir estos tumores.

Aunque ambos tipos compartan muchas características morfológicas y moleculares, equiparar ambas clases de CM puede llevarnos a conclusiones erróneas^{223,224,225}.

Clínicamente, no todos los CM triple negativos tienen rasgos morfológicos similares o comportamiento agresivo. Varios trabajos han demostrado que entre un 50-80 % de tumores TN expresan "marcadores basales" (CK 5/6, CK 14, CK 17 y/o EGFR)^{155,226,227}, y que la expresión de estos marcadores se asocia con características específicas morfológicas (p. ej. alto grado) e inmunofenotípicas (p. ej. p53+), con mutaciones BRCA1, y con un peor pronóstico si lo comparamos con tumores TN no basales^{159,194,228,229,230}.

Bertucci et al.²²⁶ en un estudio sobre tumores clasificados en base a sus perfiles de expresión génica, encontraron que un 23% (37 de 160) de los tumores basales no tenían fenotipo triple negativo, y por el contrario que el 28% (49 de 172) de tumores TN a nivel génico no eran basales.

Se ha descrito expresión de RE en 5-45%²²³, y de HER2 en un 14% de CMTB¹³⁵. La determinación IHQ de RH y HER2 también tiene falsos negativos, por lo que su negatividad como único parámetro para identificar los CMTB nos puede conducir a una mala clasificación basada en fallos técnicos¹⁶⁵.

En estudios basados en IHQ, también se ha demostrado que existe una proporción de tumores TN que no se tiñen con ningún marcador basal específico y, por tanto, no pueden ser clasificados como CMTB. Se les ha denominado como inclasificados, indeterminados, múltiple marcador negativo o subtipo nulo¹⁶². Liu et al.²³¹ encontraron un 58% de tumores TN que no expresaban ningún marcador basal (CK 5/6, CK 14 y/o EGFR), siendo este subtipo nulo clínica y biológicamente diferente (mejor pronóstico) de los TN que expresaban marcadores basales (CMTB).

Existe también diferencia en la relación entre el tamaño tumoral y el número de ganglios linfáticos afectados entre el CMTB y el TN no basal. La correlación es positiva con mayor tamaño y mayor número de ganglios afectados en el TN no basal, mientras que esta correlación no es significativa en el CMTB²³². Con respecto a la relación entre

tamaño tumoral, estatus ganglionar y supervivencia, los CM TN que no expresan marcadores basales se comportan de una manera más similar a los CM no TN, en contraposición a los tumores basales¹³.

MATERIAL

Y

MÉTODOS

A.- PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO:

1.- TIPO DE ESTUDIO:

Este trabajo de investigación consiste en un estudio observacional de carácter prospectivo-retrospectivo y de tipo longitudinal.

Han sido valorados un total de 1331 enfermos con Carcinoma Infiltrante de Mama (1320 mujeres y 11 varones) diagnosticados entre enero de 1978 y diciembre de 2009 en el Hospital Xeral-Cíes del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

En relación a la distribución por décadas de los CM seleccionados para nuestra investigación, 17 CM (1,3 %) fueron diagnosticados en la década de los 70, 270 CM (20,3 %) en la de los 80, 264 CM (19,8 %) en la de los 90 y 780 CM (58,6 %) entre los años 2000 y 2009.

Las múltiples fuentes de información utilizadas para recoger datos del seguimiento eran ciegas al tipo de CM: no se ha tenido en cuenta en el seguimiento ninguna de las características clínicas ni biológicas a la hora de investigar, con mayor o menor intensidad, la evolución clínica, la agregación de cáncer de mama, o cualquier otra variable analizada. El esfuerzo o "intensidad" del seguimiento clínico no ha sido sesgado por el tipo de CM que padeció la enferma.

2.- OBJETIVOS:

Estudiar el Carcinoma de Mama Infiltrante de Tipo Basal:

- **Medir la frecuencia del CM de TIPO BASAL en nuestro medio.**
- **Conocer el perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico del CM de TIPO BASAL, y sus peculiaridades en comparación con el resto de CM no basales.**
- **Intentar conocer la significación pronóstica del carcinoma de tipo basal en cuanto a supervivencia global.**

B.- POBLACIÓN A ESTUDIAR:

1.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Mujeres y varones con diagnóstico histológico de carcinoma de mama infiltrante primario.
- Carcinomas de mama diagnosticados y tratados en el Hospital Xeral-Cíes del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, entre el 1 de enero de 1978 y el 31 de diciembre de 2009.

2.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Hemos excluido de nuestro estudio:

- A aquellas mujeres y hombres cuyo diagnóstico histológico del CM primario se haya realizado en su totalidad en otro Centro Médico, con independencia de que en nuestro Hospital se hayan podido realizar diagnósticos de recidivas locales y/o sistémicas del CM.
- A aquellas enfermas y enfermos con CM de los que no disponíamos de material anatomopatológico, ni de informes suficientes, en el Servicio de Anatomía Patológica de nuestro Hospital para poder evaluar las características histológicas e inmunohistoquímicas de su carcinoma. En algunos de estos casos nuestro Hospital ha contribuido parcialmente en el diagnóstico: bien como caso consulta, o mediante la aplicación de una técnica diagnóstica aislada (PAAF, BAG, BAV,...); pero siempre el responsable directo del diagnóstico era un centro hospitalario ajeno al nuestro.
- Las neoplasias malignas mamarias no epiteliales. También hemos excluido los carcinomas in situ y los carcinomas de mama con microinfiltración, con el objetivo de hacer la serie más homogénea para nuestro estudio.

3.- CARACTERÍSTICAS:

Las mujeres con CM estudiadas tenían su residencia habitual en la zona sur de la provincia de Pontevedra en el momento del diagnóstico. Se trata de una población homogénea en relación a características sociales, étnicas y ambientales. Todos los CM fueron tratados en un único Centro Hospitalario por los mismos equipos médicos.

C.- MUESTRA, MUESTREO Y MARCO DEL ESTUDIO:

1.- TAMAÑO Y CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:

La muestra se compone de una serie de 1331 CM diagnosticados y tratados en el Hospital Xeral-Cíes del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo durante un período de tiempo de 31 años, transcurrido entre el 1 de enero de 1978 y el 31 de diciembre de 2009.

2.- TIPO DE MUESTREO Y MARCO DEL ESTUDIO:

Comenzamos recogiendo todos los registros de CM del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Xeral-Cíes del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, desde el 1 de enero de 1978 hasta el 31 de diciembre de 2009. Este primer paso nos proporcionó el diagnóstico histológico del tumor.

Desde 1987 venimos revisando las historias clínicas de todos los CM de nuestro Hospital. En muchos casos entrevistamos a las propias enfermas para completar sus historiales médicos. Además, nos ha sido muy útil el Archivo General del propio Hospital y el Archivo Informatizado del Servicio de Anatomía Patológica, así como el soporte informático IANUS del Servicio Galego de Saúde.

3.- CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS Y MEDIDAS DE SEGURIDAD:

Los investigadores que contribuyeron a los Registros empleados en este trabajo de investigación mantienen y respetan los niveles de confidencialidad que tradicionalmente se aplica en la relación médico-enfermo; esta obligación se extiende, incluso después del fallecimiento de los enfermos incluidos en nuestras bases de datos. El ámbito de la confidencialidad se extiende no sólo a los datos identificables sobre las personas y los proveedores de datos, sino también a otros datos directa o indirectamente identificables, almacenados en nuestro Registro.

Las normas sobre confidencialidad siguen lo establecido en la Ley Orgánica 15/99 de 13/12/99 de Protección de Datos de carácter personal y en la Ley 14/2007, de 3 de Julio, de Investigación Biomédica.

Uno de los miembros del equipo investigador del Proyecto Agueda-Vigo Cáncer de Mama se asegura de que todas las personas que colaboran en estas bases de datos sean conscientes de la responsabilidad individual respecto a la confidencialidad y como

medida de seguridad sólo esta persona dispone de copia informatizada de dichos Registros. El personal investigador que utiliza estas bases de datos es responsable de la confidencialidad de toda la información que se encuentre durante la búsqueda de datos.

4.- CALIDAD DE LOS DATOS:

Los registros de cáncer requieren un tiempo de maduración. Se estima que se requieren varios años (entre 10 y 15) para declarar con confianza que un registro se halla en condiciones de monitorizar con precisión la situación epidemiológica del cáncer. En nuestro caso, el trabajo en equipo y la constancia con la que hemos mantenido estos registros desde 1987 hasta la actualidad, nos permiten garantizar la calidad de la información recogida desde múltiples fuentes.

D.- VARIABLES ESTUDIADAS.

1.- VARIABLES CLÍNICAS:

- **Sexo y edad en el momento del diagnóstico.**
- **Localización tumoral, lateralidad, bilateralidad y multifocalidad / multicentricidad.**
- **Antecedentes obstétrico-ginecológicos:** edad de la menarquia, nº de gestaciones, nº de partos a término, nº de abortos y edad en el parto del primer hijo.
- **Grupo sanguíneo.**
- **Agregación familiar de cáncer de mama.** Debemos diferenciar entre Cáncer de Mama ESPORÁDICO, Cáncer de Mama FAMILIAR y Cáncer de Mama HEREDITARIO.

Existe un pequeño porcentaje de enfermas con un CM menos necesitado de la influencia de factores ambientales para su desarrollo, porque tienen un mayor trasfondo hereditario. En nuestra investigación hemos seguido los criterios propuestos por Cortizo y cols.²³³ para definir el Cáncer de Mama Familiar y el Hereditario, los cuales pueden ser usados con sencillez para identificar a estas familias.

Definición de CM Hereditario²³⁴: Historia familiar de CM en 3 ó más parientes de primer o segundo grado (incluida la probando) en diferentes generaciones. En aquellas familias en las que los CM se concentran en la misma generación, solo se clasificaron como hereditarios si el CM de la probando correspondía a un CM bilateral y/o su edad de presentación era inferior o igual a 40 años.

Definición de CM Familiar²³⁵: Enfermas con CM con antecedentes familiares de CM que no se ajusten a la definición de CMH. En estos casos, los familiares tienen un riesgo excesivo (triple) de CM durante toda la vida comparados con la población sin antecedentes de CM.

Definición de CM Esporádico: Enfermas con CM sin antecedentes familiares de CM.

2.- VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS:

- **Tipo histológico.**

El tipo histológico de los tumores fue determinado según los criterios expuestos por Peter Rosen²³⁶ y por Juan Rosai²³⁷, en consonancia con los criterios expuestos en la Clasificación Histológica de los Tumores de Mama, editada por la Organización Mundial de la Salud¹.

- **Diferenciación tubular, pleomorfismo nuclear, actividad mitótica y Grado de Diferenciación.**

Seguimos el sistema más utilizado en la actualidad, que es el de Bloom-Richardson²³ con la modificación de Nottingham introducida por Elston y Ellis²⁴. Este sistema de gradación combina la evaluación arquitectural (formación de túbulos - glándulas), el grado de atipia nuclear y el recuento de figuras de mitosis. A cada uno de los conceptos se le asigna una puntuación de 1-2-3.

Formación tubular: (1: Túbulos en > del 75 % del tumor); (2: Túbulos en 10 % a 75 % del tumor) y (3: Túbulos en < del 10 % del tumor).

Pleomorfismo nuclear: (1: Núcleos con mínima variación en tamaño y forma); (2: Núcleos con moderada variación en tamaño y forma) y (3: Núcleos con marcada variación en tamaño y forma).

Contaje de mitosis por 10 campos de gran aumento^{23,24,238}: Las mitosis deben contarse solamente en la periferia del tumor y se comenzó por el área mitóticamente

más activa. La puntuación según el número de mitosis está en relación con el objetivo y el tamaño del campo visual, así como con el tipo de microscopio utilizado, en nuestro caso se utilizó un microscopio Olympus BX 40, con un objetivo (x 40), con un diámetro de campo de 0,65 mm y un área del campo de 0,17 mm²:

Microscopio	<i>Leitz Ortholux</i>	<i>Nikon Labophot</i>	<i>Leitz Diaplan</i>
Objetivo.	x 25	x 40	x 40
Diámetro del campo (mm)	0,59	0,44	0,63
Área del campo (mm²)	0,274	0,152	0,312
Contaje de mitosis			
1	0–9	0–5	0–11
2	10–19	6–10	12–22
3	> 20	>11	>23

El resultado final es una puntuación de 3-9 que nos da el grado histológico final siguiendo la siguiente relación:

Grado I	Bien diferenciado	3 a 5 puntos
Grado II	Moderadamente diferenciado	6 a 7 puntos
Grado III	Pobremente diferenciado	8 a 9 puntos

- **Presencia de Componente Intraductal Extenso** (CIE).

Se clasificó en dos grupos: ausente y presente. Se consideró presencia de componente intraductal extenso (CIE) cuando la presencia del componente intraductal in situ junto al tumor infiltrante representaba el 25 % ó más de la neoplasia maligna y en estos casos el carcinoma ductal in situ estaba presente en la periferia del tumor.

- **Presencia de Enfermedad de Paget del Pezón.**

Se consideró como positiva, la presencia de enfermedad de Paget del pezón, cuando la biopsia mostraba células de Paget dentro de la epidermis del pezón (Células grandes, redondas y con citoplasma pálido que se tiñe con PAS; con núcleos hiper cromáticos). Estas células, que se encuentran infiltrando la capa basal de la epidermis en la elongación de las crestas interpapilares y en el estrato espinoso, se observaron aisladas o en pequeñas agrupaciones en perdigonada.

3.- VARIABLES DE ESTADIFICACION TNM (AJCC, 2003⁴⁶):

- **Tamaño tumoral** (medición macro-microscópica del componente infiltrativo).
En aquellos casos (< 5% de la serie total) que no disponíamos del tamaño por anatomía patológica se consideró el tamaño estimado por ecografía y/o otras técnicas de imagen (mamografía y RM)
- **Afectación metastásica axilar**: positiva ó negativa; número de ganglios linfáticos axilares disecados e infiltrados y pN.
- **Estadificación tumoral** pTNM.

4.- CLASIFICACIÓN DE LOS CASOS EN SUBTIPOS MOLECULARES:

Fueron seleccionados en base a los perfiles de expresión inmunohistoquímicos. La clasificación molecular de los tumores se realizó mediante la estimación del porcentaje de células que mostraban una tinción característica, de acuerdo con la Tabla XI.

Subtipo	Marcadores inmunohistoquímicos			
	RE	RPg	HER-2	Diferenciación basal
Luminal A	+	+		
	+	-	-	+/-
	-	+		
Luminal B	+	+		
	+	-	+	+/-
	-	+		
HER-2	-	-	+	+/-
Tipo Basal	-	-	-	+ (≥ 1)
"Triple" Negativo	-	-	-	-

Tabla XI: Clasificación molecular de los casos de CM infiltrante, en función de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos.

Para conocer el perfil inmunohistoquímico de los 1321 CM incluidos en nuestra investigación seguimos distintas estrategias con la finalidad de englobar el mayor número posible de CM. En esta valoración sólo se ha tenido en cuenta sólo el componente infiltrante de las muestras tumorales. Podemos hablar de tres diferentes metodologías empleadas para conocer el perfil de expresión inmunohistoquímico de los carcinomas infiltrantes:

- **Estudiados mediante la construcción de microarrays de tejidos en el IPATIMUP (Oporto) (n = 431).**
- **Caracterizados en otros proyectos previos de nuestro grupo de investigación (n = 150).**
- **Caracterizados en nuestro Hospital dentro de la propia actividad asistencial de rutina (n = 740).**

INMUNOHISTOQUÍMICA. ESTUDIO DE PERFILES MOLECULARES:

SERIE IPATIMUP (n = 431)

Gracias a la generosa colaboración de todo el equipo de investigación de patología mamaria del IPATIMUP (Instituto de Patología Molecular de la Universidad de Oporto) y en especial a su Director, el Profesor F.C. Schmitt, pudimos construir, con nuestras muestras de tejido en parafina, microarrays de tejidos (TAM) que facilitaron el análisis de la expresión de múltiples marcadores inmunohistoquímicos de una manera simultánea.

Muestras Tumorales y construcción de Tissue Microarray

Estudiamos muestras de tejido tumoral mamario (fijadas con formol y posteriormente conservadas en parafina) de 431 pacientes (de 28 a 96 años) diagnosticadas de CM infiltrante entre los años 1978 y 1992. Todos estos casos han sido cuidadosamente revisados por dos patólogos con especial dedicación a la patología mamaria, sobre secciones teñidas con hematoxilina-esosina (H&E).

Con estos tejidos neoplásicos, se construyeron 12 bloques de tissue microarrays (TMA) con un grosor de 0,06 mm. de diámetro (Manual Tissue Arrayer, Beecher Instruments Inc.). Previamente habíamos seleccionado áreas representativas del tumor

mediante la visualización de la sección teñida con H&E de cada bloque de parafina donante. Al menos dos cilindros de tejido se obtuvieron de cada espécimen y se depositaron en el bloque recipiente de parafina. En cada bloque TMA se incluyeron además otros tejidos diferentes al mamario que nos sirvieron como controles.

Después de la construcción de los TAM, se cortaron secciones tisulares de 2µm del tumor y se adhirieron a láminas de cristal (Polysine TM, Menzel-Glasse, Germany), para poder realizar el estudio inmunohistoquímico. Una sección teñida con H&E de cada bloque de TMA fue revisada para confirmar la presencia de áreas morfológicamente representativas de las lesiones originales.

Para poder aplicar la clasificación molecular a todos los CM, se evaluó la expresión de los marcadores de CM más frecuentemente estudiados, utilizando los anticuerpos descritos en la Tabla XII. El anticuerpo primario fue detectado utilizando un anticuerpo secundario con HRP polymer, el Envision Detection System (DAKO Cytomation Envision System HRP; DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA) o un anticuerpo secundario biotinilado y complejo streptavidin-peroxidada de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes; ambos métodos utilizando el DAB como cromógeno.

Antígeno	Anticuerpos primarios				Buffer recuperador antígeno	Método detección
	Clon	Origen	Incubación tiempo (min)	Dilución		
ER	SP1	Neomarkers	30	1:200	Citrato	Envision DAKO
PgR	SP2	Neomarkers	30	1:300	Citrato	HRP-Polymer
HER2	CB11	Neomarkers	30	1:400	Citrato	Envision DAKO
CK5	XM26	Neomarkers	30	1:50	Citrato	Envision DAKO
EGFR	31G7	Zymed	60	1:100	Pepsina	HRP-Polymer
P-cadherin	C56	BD Transduction	60	1:50	Tris-EDTA	HRP-Polymer
CK14	NCL-L-LL002	Novocastra	60	1:400	Tris-EDTA	HRP-Polymer

Tabla XII: Anticuerpos utilizados en la tinción inmunohistoquímica de los Tissue Microarrays

La expresión de RE y RPg fue graduada midiendo su intensidad (Intensidad: 0 = negativa; 1 = débil; 2 = moderada; 3 = fuerte) y la extensión (Extensión: 0 = negativa; 1 = 1-10%; 2 = 11-20%; 3 = 21-30%; 4 = 31-40%; 5 = 41-50%; 6 = 51-60%; 7 = 61-70%; 8 = 71-80%; 9 = 81-90%; 10 = 91-100% de los núcleos teñidos). Los casos fueron considerados negativos si el score (intensidad+extensión era igual a tres), y positivos si el score (era mayor de tres).

La tinción HER2 fue graduada de acuerdo al score Dako, y los marcadores EGFR, P-cadherina, CK 14 y CK 5 fueron considerados positivos si al menos un 10% de las células tumorales estaban teñidas.

SERIES CARACTERIZADAS EN OTROS PROYECTOS PREVIOS DE NUESTRO GRUPO DE INVESTIGACIÓN (n = 150) Y DENTRO DE LA PROPIA ACTIVIDAD ASISTENCIAL DE RUTUNA DE NUESTRO HOSPITAL (n = 740).

De cada uno de los carcinomas estudiados se seleccionó un bloque de parafina para estudio inmunohistoquímico, procurando que incluyese neoplasia y tejido mamario sano. Siguiendo los pasos habituales y el método de estreptavidina peroxidasa se utilizaron los siguientes anticuerpos:

- **Receptor Estrogénico** (Novo Castra, clon SP1, dilución 1: 50).
- **Receptor de Progesterona** (Novo Castra, clon 1E2, dilución 1:50).
- **Proteína p53** (Novo Castra, clon DO-7, dilución 1: 50).
- **HER-2/neu** (Novo Castra, clon 4B5, dilución 1: 50).
- **Ki-67 (Mib-1)** (Master Diagnóstico, clon 30-9, dilución 1: 50).
- **E-cadherina** (Dako, clon NCH-38, dilución: 1:50).

La expresión de **Receptores de Estrógenos y de Progesterona** fue graduada por métodos inmunohistoquímicos, siguiendo para su cuantificación el sistema de cinco grados propuesto por Sannino y Shousa²³⁹ y recomendado por Schmitt y Ponsa²⁴⁰, que tiene en cuenta la *intensidad y el porcentaje de tinción*. En este sistema, la intensidad de marcaje está dividida en: 1 punto (moderada) y 2 puntos (fuerte). El porcentaje de células tumorales marcadas se valora en: *1 punto* (Si las células marcadas son ocasionales o hasta 1/3), *2 puntos* (Si las células marcadas son hasta 2/3) y *3 puntos* (Si

las células marcadas son más de 2/3). Siguiendo este sistema, aunque tenga sus limitaciones, hemos considerado:

Negativo	No se observan células tumorales marcadas
Positivo +	Presencia de células ocasionales marcadas
Positivo ++	Grado 1 = Porcentaje (1) x Intensidad (1) Hasta 1/3 de células marcadas con intensidad moderada
Positivo +++	Grado 2 a 4 = 2 x 1, 2 x 2 ó 3 x 1. Hasta 2/3 de células marcadas con intensidad moderada o fuerte, o intensidad moderada en más de 2/3.
Positivo ++++)	Grado 6 = 3 x 2. Tinción de intensidad fuerte en más de 2/3.

Para Schmitt y cols.^{240,241} este método ha demostrado la siguiente equivalencia:

Método bioquímico	Método inmunohistoquímico
Recep. Hormonales NEGATIVOS	Todos los casos negativos o positivos (+).
Recep. Hormonales POSITIVOS	El 80 % de los casos positivos (+++) Casi el 100% de los casos positivos (++++)

Los casos positivos (++) son los que ofrecen mayor discordancia, pero estos casos son infrecuentes.

Para la valoración de la *expresión p53* se siguió un sistema idéntico al descrito para los receptores hormonales²⁴².

Para la valoración del *índice de proliferación*, hemos decidido escoger como puntos de corte para el anticuerpo monoclonal **Ki-67 (MIB-1)**²⁴³:

índice proliferativo bajo	Menos del 10 %
índice proliferativo moderado	Entre el 11 y el 20 %
índice proliferativo alto	Mayor del 20 %

La *determinación de la expresión de HER-2/neu (c-erbB-2)* por inmunohistoquímica presenta una gran ventaja sobre el estudio de productos de otros genes, ya que en la casi totalidad de los casos en que existe una tinción de membrana para el HER-2 está asociada a una amplificación real del gen demostrado por técnicas de biología molecular²⁴⁰. El HER2 solo se consideró POSITIVO, cuando la tinción (moderada o intensa: +++) de la membrana era positiva en más del 80 % de las células neoplásicas.

Sólo en aquellos casos que fueron considerados como dudosos (++) se realizaron estudios mediante *técnicas de hibridación "in situ" fluorescente (FISH)* empleando sondas específicas para el gen ERBB-2 (17q12-21) y para el centrómero del cromosoma 17 (D17Z1). Se realizó un recuento de señales sobre al menos 20 núcleos interfásicos en las áreas de carcinoma infiltrante. Se consideró que el gen está amplificado si la ratio media ERBB-2/Media D17Z1 fue $> 2,2$.

La *expresión de CK 5* fue considerada positiva si al menos un 10% de las células tumorales estaban teñidas.

La pérdida completa de expresión de *E-cadherina* fue considerada negativa, y se consideró que ésta ocurre en la mayoría de carcinomas lobulillares invasivos, lo que nos permitió distinguirlos del carcinoma de origen ductal, que conserva la expresión de la glicoproteína.

En un pequeño porcentaje de casos, diagnosticados recientemente (2008 y 2009), la inmunotinción comenzó a ser valorada mediante el VIAS (Sistema de Análisis de Imagen de Ventana).

5.- VARIABLES ONCOLÓGICAS:

- **Recurrencia local.**

Se entiende por recidiva local (RL) la reaparición de la enfermedad neoplásica en la región mamaria operada y/o axila homolateral. En muchos estudios se excluye la RL diagnosticada simultáneamente y sucesivamente a metástasis a distancia, ya que en esta circunstancia la RL podría ser considerada como una de las expresiones de la progresión generalizada de la enfermedad.

- **Recidiva sistémica.**
- **Patrón de diseminación a distancia.**
- **Supervivencia global del CM.**

Se consideró el tiempo de vida de la enferma desde que entró en el estudio (fecha del diagnóstico anatomopatológico) hasta la fecha en que la enferma fallece por la enfermedad o por cualquier otra causa. En aquellos casos en los que la enferma continuaba viva, se registró la fecha del último control clínico en el que se tuviese constancia del estado de la misma. Dejamos constancia, de que más del 95 % de las 1320 enfermas incluidas en este estudio han podido ser monitorizadas - desde el

momento del diagnóstico – hasta Enero de 2010, de una manera muy intensa y exhaustiva. Para optimizar el seguimiento, y así perder el menor número de casos posible, nos hemos ayudado de la:

- Creación de un Registro de Esquelas que hemos informatizado y mantenemos actualizado desde 1974 hasta la actualidad. En nuestro medio no existen registros públicos de este tipo a los que pudiésemos tener acceso.
- En nuestra base de datos, figura el médico de familia de cada una de las enfermas. Cuando nos fue necesario, contactamos personalmente con los médicos de atención primaria para completar datos clínicos del seguimiento.
- En un porcentaje significativo de enfermas que habían fallecido hemos tenido acceso y revisado la historia clínica electrónica y/o en papel del propio Centro de Salud. Por supuesto, además de revisar la propia historia del hospital.
- En aquellos casos en los que hubo cambios en la domiciliación, en el número de teléfono, fallos en la identificación de las enfermas en los registros, agravados cuando ésta había fallecido, fueron solucionados mediante consulta telefónica a algún familiar directo localizado a través de nuestro registro de esquelas, preguntando a los vecinos de la última dirección conocida o consultando los archivos de otros hospitales de la zona (Hospital do Meixoeiro y Centro Médico POVISA). En último término consultamos el registro de las empresas funerarias de la localidad.

- **Diagnóstico de otras neoplasias malignas asociadas al CM.**

Para la codificación de tumores múltiples, hemos seguido las reglas de la AIRC (Agencia Internacional de Registros de Cáncer) para la codificación de tumores múltiples²⁴⁴:

PRIMERA.- El reconocimiento de la existencia de 2 ó más tumores múltiples primarios no depende del tiempo transcurrido entre la aparición de los mismos.

SEGUNDA.- Un cáncer primario es aquél que se origina en una localización primaria o tejido y no es una extensión, recidiva o metástasis.

TERCERA.- Solamente se reconocerá un tumor en cada órgano o par de órganos o tejidos. Para los tumores cuya localización está de acuerdo con la primera edición de la CIE-O o la CIE-9 un órgano o tejido esta definido por la categoría de tres caracteres del código topográfico. La CIE-10 y la segunda y tercera edición de la CIE-O tienen un

conjunto más detallado de códigos topográficos. Las localizaciones englobadas en algunos grupos de códigos se consideran como un órgano individual para la definición de tumores múltiples. Los tumores multifocales (es decir, masas aparentemente discretas sin continuidad con otros tumores primarios dentro del mismo órgano o tejido primario como, por ejemplo, la vejiga urinaria) se cuentan como un solo tumor. El cáncer de la piel es un problema especial porque el mismo individuo puede tener muchas de esas neoplasias en el curso de su vida. La regla para el cálculo de incidencia establece que solo el primer tumor de un tipo histológico definido, en cualquier parte de la piel, se cuenta como un incidente de cáncer a menos que, por ejemplo, uno de ellos fuera un melanoma maligno y el otro un carcinoma basocelular.

CUARTA.- La regla 3 no se aplica en dos circunstancias: Para cánceres sistémicos o multicéntricos que potencialmente comprometen varios órganos separados, se incluyen cuatro grupos histológicos: linfomas, leucemias, sarcoma de Kaposi y mesotelioma. Ellos se cuentan solamente una vez en cada individuo. Otras histologías específicas se considera que son diferentes para el propósito de definir tumores múltiples (Carcinomas epidermoides, basocelulares, adenocarcinomas, otros carcinomas especificados, sarcomas y tumores de tejidos blandos y otros tipos de cáncer especificados). Por lo tanto, un tumor que aparece en el mismo órgano, pero con histología diferente, se considera como un nuevo tumor. Los grupos (carcinomas no especificados) comprenden tumores que todavía no han sido tipificados histológicamente en forma satisfactoria y, por lo tanto, no se pueden distinguir de otros grupos.

E-. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS RESULTADOS

Los datos obtenidos en este estudio se introdujeron en una base elaborada en el programa Microsoft Excel. El análisis y tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante el paquete informático SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, Illinois, USA) versión 15.0 para windows, con licencia de la Facultad de Informática de la Universidad de La Coruña.

El estudio estadístico comprendió tres aspectos. Un primer apartado descriptivo, un segundo apartado centrado en la estadística comparativa y un tercero, dedicado al análisis de supervivencia y la aparición de metástasis o recidiva tumoral.

En el *apartado descriptivo* se realizó un análisis de la distribución de frecuencias en el caso de variables cualitativas, y se realizó el estudio sobre las medidas de posición central y dispersión en el tratamiento de las variables cuantitativas

La *comparación entre variables cualitativas* se realizó mediante el *test del chi-cuadrado*; cuando los casos esperados fueron menor que 5, se aplicó el *test exacto de Fisher* si tabla era de 2x2 ó la *corrección de Yates* en tablas de más de 2x2.

La *comparación entre variables cuantitativas*, previa verificación de normalidad mediante prueba de Kolmogórov-Smirnov, mediante el test *t-Student* si la variable categórica es dicotómica o el *test ANOVA* (análisis de la varianza) en caso de presentar más categorías. Para la prueba de homogeneidad de las varianzas utilizamos el estadístico de Levene. En caso de que $p > 0,05$ asumíamos varianzas iguales, aplicando entonces el Test de Bonferroni. En caso contrario, no asumiendo varianzas iguales ($p < 0,05$) aplicamos el test T2 de Tamhane. La comparación entre *variables continuas* se realizó mediante el *test de correlación de Pearson*.

En cuanto al *análisis de supervivencia*, para calcular el valor pronóstico de las distintas variables se ha utilizado en primer lugar, un *estudio univariante de supervivencia mediante curvas Kaplan-Meier*²⁴⁵. De este modo se realiza un análisis estadístico para obtener información relativa a la probabilidad de sobrevivir a lo largo del tiempo ante la presencia de una enfermedad, y luego comparar la influencia de ciertas variables con poder predictivo o pronóstico sobre la supervivencia. El test Log-Rank (Mantel-Cox) aporta la significación estadística de la influencia para cada una de las variables analizadas por separado.

Posteriormente, mediante el *modelo de regresión de Cox*²⁴⁶ se ha realizado el *análisis multivariante de la supervivencia* ponderando la capacidad predictiva de cada una de las variables solas y combinadas. Para ello, hemos estudiado el Odds ratio y sus respectivos intervalos de confianza.

F.- ESTRUCTURA DEL TRABAJO Y TRATAMIENTO DE LA BIBLIOGRAFÍA

La estructura completa de esta tesis doctoral, redacción y edición, obedecen a lo recomendado para tesis doctorales en medicina²⁴⁷. La bibliografía utilizada para la presente investigación procede de los archivos de las Bibliotecas del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo, Facultad de Medicina de Santiago, del IPATIMUP (Oporto) y del SERGAS. Así mismo se consultó el Medline (PubMed) a través de Internet.

La bibliografía se clasificó por orden de aparición en el texto, siguiendo las normas actualizadas del grupo de Vancouver.

RESULTADOS

A. CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE.

Han sido valorados un total de 1331 enfermos con Carcinoma Infiltrante de Mama diagnosticados entre 1978 y 2009; y tratados en el Hospital Xeral-Cíes del Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. En la tabla XIII vemos la distribución por décadas de los casos seleccionados para el estudio.

Década 70s	Década 80s	Década 90s	Década 00s
1,3 % (17)	20,3 % (270)	19,8 % (264)	58,6 % (780)

Tabla XIII: Distribución por décadas de los casos seleccionados para el estudio.

1.- EDAD Y SEXO.

SERIE TOTAL	Edad Media (años)	Min.	Máx.	D. típica
1331	60,08 años	27	96	13,84

Tabla XIV: Edad Media (DS) de las pacientes de la Serie Total.

Nº de casos	Mujeres (n = 1320)	Varones (n = 11)
1331	99,2 %	0,8 %

Tabla XV: Proporción de CM en mujeres y varones de la serie total.

	EDAD MEDIA (D.S.)	Significación bilateral	Valor de t	G. de libertad	Diferencia de Medias
Mujeres (n = 1320)	59,9 años (13,8)	P < 0,000	-3,559	1329	-14,858
Varones (n = 11)	74,8 años (10,3)				

TABLA XVI: Edad media (DS) de mujeres y varones de la Serie total.

El 0,8% de los CM (11 de 1331) correspondían a CM masculinos, resultando la edad media del CM en el varón (74,8 años) sensiblemente superior a la del CM femenino (59,9 años) ($p < 0,0001$) (Tablas XV y XVI).

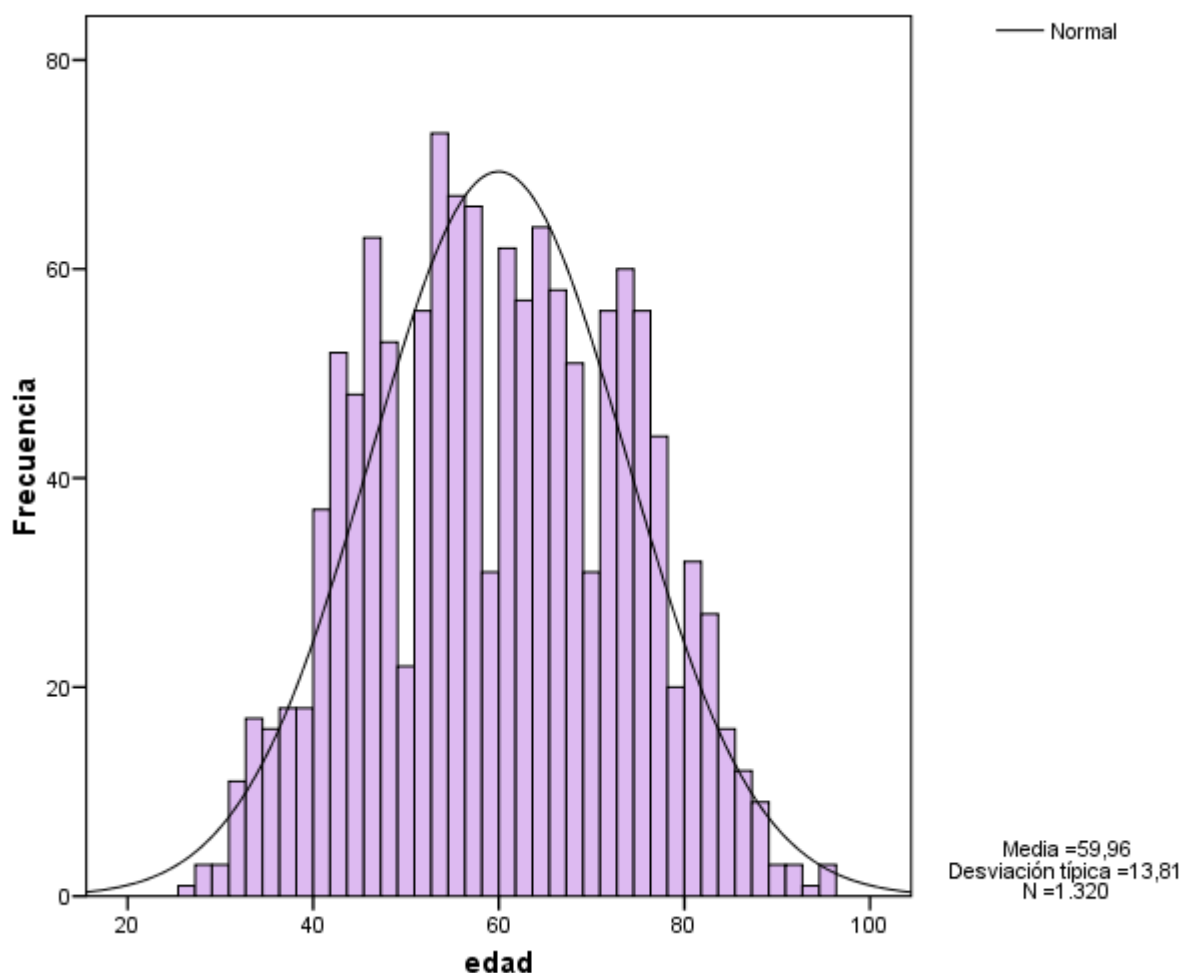


Figura 12: Distribución por edades de las pacientes con CM invasivo incluidas en el estudio.

Nº de casos	< 50 años	≥ 50 años
Serie MUJERES N = 1320	25,8 % (n = 340)	74,2 % (n = 980)
Serie VARONES N = 11	0 % (n = 0)	100 % (n = 11)
Serie total N = 1331	25,5 % (n = 340)	74,5 % (n = 991)

Tabla XVII: Proporción de pacientes en grupos etarios (Punto de corte: 50 años).

Todos los CM masculinos (11 de 11) de nuestra serie tenían más de 50 años. En las mujeres este porcentaje alcanzaba al 74,2 % de los CM (Tabla XVII).

2.- Serie Total de CM: CLASIFICACIÓN DE LOS CASOS EN SUBTIPOS MOLECULARES.

Al analizar los porcentajes de los diferentes subtipos de CM según la clasificación molecular, pudimos observar en la serie total (1331 CM) que el subtipo más frecuente fue el luminal A (69%) y el menos frecuente el triple negativo (3,6%) (Tabla XVIII).

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
Serie MUJERES N = 1320	68,8 % (908)	11,4 % (150)	10,4 % (137)	5,9 % (78)	3,6 % (47)
Serie VARONES N = 1320	90,9 % (10)	0 %	0 %	0 %	9,1 % (1)
Serie total N = 1331	69,0 % (918)	11,3 % (150)	10,3 % (137)	5,9 % (78)	3,6 % (48)

Tabla XVIII: Clasificación en subtipos moleculares de la serie total de CM, CM femenino y CM varones.

Ninguno de los CM masculinos (11 enfermos) pudo ser clasificado como Carcinoma de Mama de tipo Basal (90% fueron clasificados Luminal A, y un caso como Triple Negativo).

Por ello, a partir de aquí, **decidimos excluir de nuestra investigación a todos los cánceres de mama del varón** y centrarnos a estudiar el CM de tipo basal específicamente en la serie de CM femeninos, limitando a ésta el estudio de las siguientes variables y su comparación entre los CM de tipo Basal y el resto de CM.

3.- Serie de CM femenino: LOCALIZACIÓN Y BILATERALIDAD.

Nº de casos	Derecha	Izquierda
1198	47,7 % (n = 572)	52,3 % (n = 626)

Tabla XIX: Localización de los tumores de la serie total de CM.

Nº de casos	Unilaterales	Bilaterales
1320	91,5 % (n = 1208)	8,5 % (n = 112)

Tabla XX: Bilateralidad de los tumores en la serie de CM femenino.

Cuadrante Súpero Interno 9,9 % (110)	Unión Cuadrantes Superiores 9,3 % (103)	Cuadrante Súpero Externo 32,0 % (356)
Unión Cuadrantes Internos 3,1 % (34)	Central o Subareolar 8,4 % (93)	Unión Cuadrantes Externos 8,4 % (93)
Cuadrante Inferior Interno 4,1 % (46)	Unión Cuadrantes Inferiores 2,5 % (28)	Cuadrante Inferior Externo 7,7 % (86)
Difuso (2 ó más cuadrantes) : 3,8 % (42)		
MULTIFOCAL (mismo cuadrante): 5,1 % (57)		
MULTICÉNTRICO (distinto cuadrante): 5,7 % (63)		

Tabla XXI: Localización anatómica del tumor en los diferentes cuadrantes de la glándula mamaria. Serie total de CM.

Estudiando la localización del tumor en las glándulas mamarias, observamos un discreto predominio de la mama izquierda (52,1 %) frente al 47,7 % que se localizaron en la mama derecha (Tabla XIX). En un 8,5 % de los casos los CM fueron bilaterales (Tabla XX).

Dentro de la propia glándula mamaria, y dividiéndola anatómicamente en cuadrantes, el CM se localizó preferentemente en el Cuadrante Súpero Externo (31,8 %). El 3,7 % de las neoplasias malignas ocupaban al menos dos o más cuadrantes de la mama, y en el 10,7 % de los CM existía más de un foco tumoral (el 5,1 % se consideraron multifocales y el 5,6 % multicéntricos) (Tabla XXI).

4.- Serie de CM femenino: HISTORIA OBSTÉTRICA.

Historia Obstétrica	Nº de casos	Media (DS)
Edad de la menarquia	226	13,85 años (1,83)
Nº de gestaciones	232	2,72 (1,94)
Nº de partos a término	231	2,39 (1,72)
Nº de abortos	229	0,34 (0,73)
Edad en el parto (1er. Hijo)	118	25,68 años (4,87)

Tabla XXII: Resumen de los datos sobre historia obstétrica recogidos en la serie de CM femenino.

Entre las enfermas de CM de las que disponíamos de su historia obstétrica con datos muy fiables (entrevista personal y revisión de historial clínico), realizamos un muestreo aleatorio simple seleccionando un total de 232 casos. Este grupo nos permitió analizar los diferentes subtipos moleculares de CM en relación a sus antecedentes obstétrico-ginecológicos. En la tabla XXII se muestran los resultados.

5.- Serie de CM Femenino: AGREGACIÓN FAMILIAR DE CÁNCER DE MAMA.

Para valorar la agregación familiar, dentro de la serie total de CM femenino, realizamos en las que existían datos fiables de la agregación familiar de cáncer (por entrevista personal previa y revisión de su historia clínica) un muestreo aleatorio simple, y analizamos en profundidad este grupo seleccionado.

Nº enfermas estudiadas	Al menos un familiar con CM	Al menos un familiar en primer grado con CM	CM HEREDITARIO
334	37,4 % (125)	24,0 % (80)	5,4 % (18)

Tabla XXIII: Agregación familiar en muestreo aleatorio de 333 casos sobre la serie de CM femenino.

Del las 334 familias estudiadas, el 37% presentaban al menos un familiar con CM, en 24% de los casos al menos un familiar con CM era de primer grado y en el 5,4% se reconocía un patrón de CM hereditario (3 ó más casos de CM con un claro patrón vertical de transmisión) (Tabla XXIII).

6.- Serie de CM femenino: ASOCIACIÓN CON OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS.

El CM se asoció al Carcinoma Basocelular en 22 enfermas (1,7%), y en 78 casos (5,9 %) el CM se asoció a otro cáncer primario de diferente localización (se excluyen los Basaliomas y los CM Contralaterales (Tabla XXIV).

Nº de casos	CM y BASALIOMA	CM y otro Cáncer Se excluyen: BASALIOMAS y CM bilateral
1320 CM	1,7% (22)	5,8% (77)

Tabla XXIV: Asociación de los CM de la serie de CM femenino con otras neoplasias malignas.

7.- Serie de CM Femenino: GRUPOS SANGUÍNEOS.

Grupo Sanguíneo N =166	Nº de casos (%)
O (+)	56 (33,7 %)
O (-)	10 (6,0 %)
A (+)	74 (44,6 %)
A (-)	13 (7,8 %)
B (+)	2 (1,2 %)
B (-)	9 (5,4 %)
AB (+)	1 (0,6 %)
AB (-)	1 (0,6 %)

Tabla XXV: Grupos sanguíneos de las pacientes sobre muestreo aleatorio. Serie CM femenino.

La distribución de los grupos sanguíneos sobre un muestreo aleatorio que incluyó a 167 enfermas de la serie total de CM femenino mostró una distribución similar a la que se encuentra en la población gallega. Siendo los grupos sanguíneos O y A los más comunes y el AB el menos frecuente (Tabla XXV).

8.- Serie de CM Femenino: GRADO DE DIFERENCIACIÓN (BLOOM-RICHARDSON).

GRADO B-R	Grado I Bien diferenciado	Grado II Moderadamente diferenciado	Grado III Pobremente diferenciado
1184 Serie total	23 % (272)	38,3% (454)	38,7% (458)

Tabla XXVI: Grado de diferenciación de los tumores en la serie de CM femenino.

GRADO B-R	Grado I Bien diferenciado	Grado II Moderadamente diferenciado	Grado III Pobremente diferenciado
437 Serie revisada*	17,8 % (78)	30,9 % (135)	51,3 % (224)

Tabla XXVII: Grado de diferenciación de los tumores en la serie revisada*.

Al analizar el grado de diferenciación de Bloom-Richardson en la serie de CM femeninos, hemos decidido presentar los resultados de dos maneras diferentes: Por una parte, la presentamos tal y como había sido clasificada en el contexto clínico-asistencial; y por otra, haciendo una nueva valoración (*) por dos patólogos expertos en patología mamaria que revisaron de una manera específica una muestra de 437 tumores de la misma serie de CM.

En la serie total, el 23 % de los CM eran tumores bien diferenciados, observando el mismo porcentaje (38 %) para los CM de grado II y grado III (Tabla XXVI). Sin embargo, al estudiar la serie de 437 CM revisados de una manera específica para este trabajo, el porcentaje de tumores bien diferenciados fue del 17,8 %, moderadamente diferenciados un 30,9 %, mientras que el 51,3 % fueron clasificados como pobremente diferenciados (Tabla XXVII).

9.- Serie de CM Femenino: DIFERENCIACIÓN TUBULAR, PLEOMORFISMO NUCLEAR y ACTIVIDAD MITÓTICA.

Diferenciación TUBULAR Serie total n =437	I ≥ 75 %	II 10 - 75 %	III < 10 %
	16,7 % (73)	33,0 % (144)	50,3 % (220)
Pleomorfismo NUCLEAR Serie total 437	I mínima	II moderado	III marcado
	5,3 % (23)	17,6 % (77)	77,1 % (337)
MITOSIS x 10CGA Serie total 437	I (0-5) x 10 CGA	II (6-10) x 10 CGA	III (> 11) x 10 CGA
	29,7 % (130)	20,4 % (89)	49,9 % (218)

Tabla XXVIII: Serie revisada de 437 CM: Diferenciación tubular, Pleomorfismo nuclear y Actividad mitótica.

Los resultados presentados en la Tabla XXVIII hacen referencia exclusiva a la serie de CM (muestra de 437 CM) revisada por dos patólogos expertos en patología mamaria que reclasificaron el grado de diferenciación de Bloom-Richardson en este subgrupo.

Aproximadamente, en la mitad de CM se observó una formación tubular en menos del 10% del tumor y un conteaje de más de 11 mitosis por 10 campos de gran aumento. El 77 % de los tumores mostraron un marcado pleomorfismo nuclear.

10.- Serie de CM Femenino: TIPOS HISTOLÓGICOS.

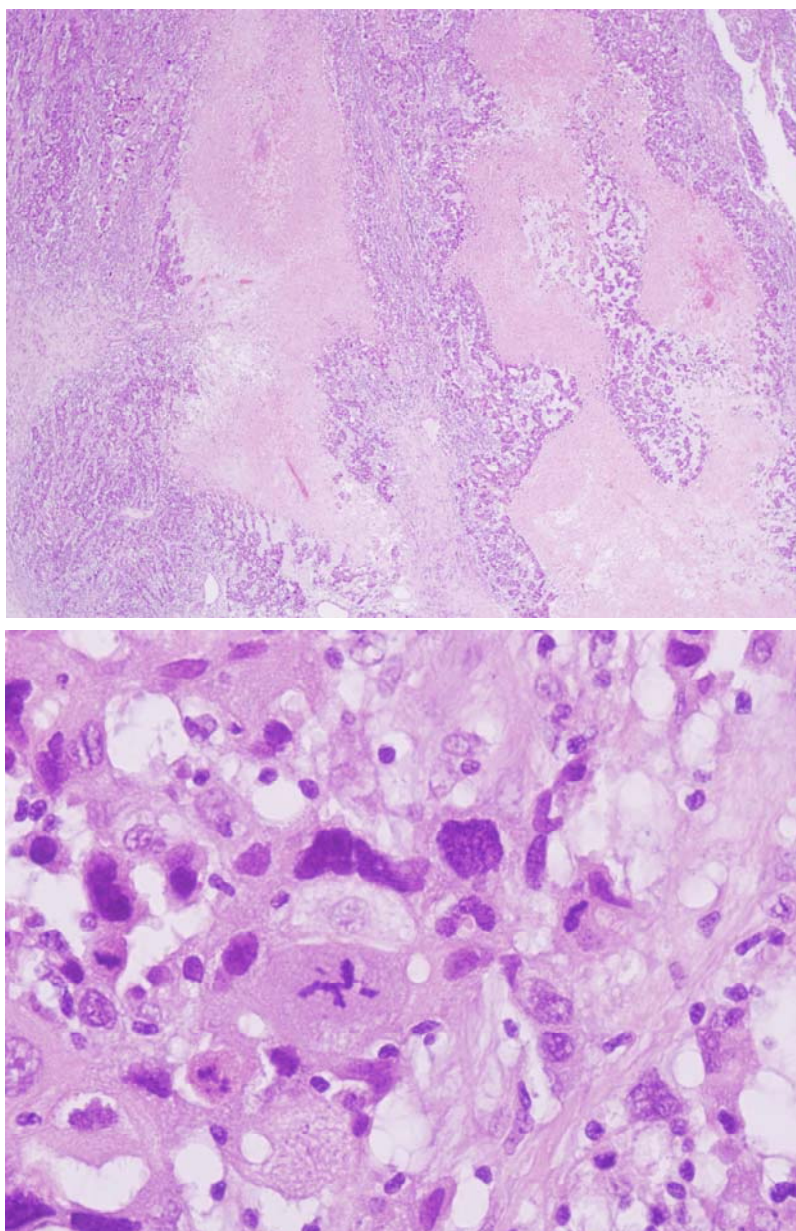
TIPO HISTOLÓGICO	SERIE TOTAL 1300 CM	SERIE REVISADA 431 CM
CDI NOS	80,2 % (1042)	70,5 % (304)
CDI NOS * (hileras + necrosis)		10,2 % (44)
Carcinoma Lobulillar Infiltrante	7,9 % (103)	4,4 % (19)
Carcinoma Mucinoso (Coloide)	2,7 % (35)	3,0 % (13)
Carcinoma Papilar Infiltrante	1,5 % (20)	3,2 % (14)
Carcinoma Inflamatorio	1,1 % (14)	0,9 % (4)
Carcinoma Tubular	1,0 % (13)	0,9 % (4)
Carcinoma Apocrino	1,0 % (13)	1,4 % (6)
Carcinoma Micropapilar Infiltrante	0,7 % (9)	0,5 % (2)
Carcinoma Medular	0,5 % (7)	0,9 % (4)
Carcinoma Papilar de tipo sólido	0,5 % (6)	0,5 % (2)
Carcinoma Neuroendocrino	0,5 % (6)	0,5 % (6)
Carcinoma Metaplásico	0,5 % (6)	1,2 % (5)
Carcinoma Tubulo-Lobulillar	0,5 % (6)	0,5 % (2)
Carcinoma Cribiforme	0,4 % (5)	0,7 % (3)
Carcinoma Pleomórfico Infiltrante	0,3 % (4)	0,7 % (3)
Carcinoma Secretor	0,2 % (2)	0,2 % (2)
Otros	0,7 % (9)	0,4 % (2)
	100 %	100 %

Tabla XXIX: Clasificación en subtipos histológicos de la serie de CM femenino y de los casos revisados.

En cuanto a la clasificación por subtipos histológicos, presentamos también los resultados de dos maneras diferentes: Por una parte, la presentamos tal y como había sido clasificada en el contexto clínico-asistencial; y por otra, una vez valorada por dos patólogos expertos en patología mamaria que revisaron de una manera específica una muestra de 431 tumores de la misma serie de CM.

Los resultados muestran como, con independencia de la serie analizada, el subtipo histológico más frecuente (80 %) fue el CDI NOS (Carcinoma Ductal Infiltrante, sin otra especificación), seguido del Carcinoma Lobulillar Infiltrante (4,4 % ó 7,7 %).

Dentro de los CDI NOS queremos destacar que tras la revisión específica de nuestra Tesis hemos podido separar un pequeño grupo de tumores (44 casos) que denominamos **CDI NOS "con hileras y necrosis"** que representó el 10,2 % de los CM y que por su importancia analizaremos posteriormente de una manera más específica (Figuras. 13 y 14).



Figuras 13 y 14: Imágenes histológicas representativas de los CDI NOS que hemos clasificado en nuestro trabajo como "CDI NOS con hileras y necrosis" y que representaron el 10,2 % del total de CM de nuestra serie.

11.- Serie de CM Femenino: PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO.

PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO	PRESENTE	AUSENTE
1315 Serie total	5,3 % (70)	94,7 % (1245)

Tabla XXX: Presencia de Componente Intraductal Extenso en los tumores de la serie de CM femenino.

12.- Serie de CM Femenino: PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN.

PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN	PRESENTE	AUSENTE
1313 Serie total	1,3 % (17)	98,7 % (1296)

Tabla XXXI: Presencia de Enfermedad de Paget del pezón en los tumores de la serie de CM femenino.

13.- Serie de CM Femenino: EXPRESIÓN DE Ki67, p53 y E-CADHERINA.

Ki-67	Ki67 < 10 %	Ki67 ≥ 10 y < 20 %	Ki67 ≥ 20 %
Serie total n = 854	32,8 % (280)	25,9 % (221)	41,3 % (353)
p53	Positiva	Dudosa	Negativa
Serie total n = 574	15,7 % (90)	3,5 % (20)	80,8 % (464)
e-cadherina	Positiva		Negativa
Serie total n = 258	86,4 % (223)		13,6 % (35)

Tabla XXXII: Serie de CM femenino: expresión de Ki67, p53 y E-Cadherina.

Valorando la actividad proliferativa mediante la expresión de Ki 67, un 32,8 % de los CM presentaron un índice bajo (< 10 %), y un 41,3 % un índice alto (≥ 20 %). La

expresión de la proteína p53 fue negativa en el 80,8 % de los casos y la de E-Cadherina positiva en el 86,4 % (Tabla XXXII).

14.- Serie de CM Femenino: TAMAÑO TUMORAL.

Nº enfermas CM	Tamaño Medio del Tumor	DS
n = 1195	2,67 cm	1,76

Tabla XXXIII: Tamaño tumoral medio y D.S. de la serie de CM femenino.

Serie total de CM	pT1 (hasta 2 cm)	pT2 (> 2 cm y ≤ 5cm)	pT3 (> 5 cm)	pT4 (extensión directa pared tórax o piel)
n = 1205	46,5 % (560)	43,7 % (527)	6,0 % (72)	3,8 % (46)

Tabla XXXIV: Tamaño tumoral (pT) de los casos de la serie de CM femenino.

Al estudiar las categorías pT de la clasificación TNM (Tabla XXXIV), observamos que prácticamente la totalidad de los casos se agrupan en las categorías pT1 y pT2 (tumores menores de 5 cm.).

15.- Serie de CM Femenino: AFECTACIÓN GANGLIONAR LINFÁTICA.

AFECTACIÓN GANGLIONAR pN N = 1142	Nº Casos	Porcentaje
pN0 (Axila negativa)	584	51,1 %
pN0 (i+) Células tumorales aisladas en axila	5	0,4 %
pN0 (i+) Células tumorales aisladas en CMI	1	0,1 %
pN1mic	23	2,0 %
pN1a	286	25,0 %
pN2a	152	13,3 %
pN3a	85	7,4 %
pN3b	2	0,2 %
pN3c	4	0,4 %

Tabla XXXV: Estatus de afectación nodal en los casos de la serie CM femenino. CMI: Cadena Mamaria Interna.

Axila	NEGATIVA	1 a 3 ganglios positivos	≥ 4 ganglios positivos
SERIE TOTAL n = 1092	53,3 % (582)	25,5 % (279)	21,2 % (231)

Tabla XXXVI: Afectación ganglionar de la axila, en función del número de ganglios positivos.

Al estudiar la afectación ganglionar (pN) de la serie total de CM femenino, vemos que poco más de la mitad de los casos (51,2 %) está libre de la misma (Tabla XXXV). A partir de la utilización de rutina de la técnica de la Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela (2007) se empiezan a identificar células tumorales aisladas, micrometástasis y la afectación de los ganglios de la cadena mamaria interna. Dentro de los casos con ganglios positivos, en un poco más de la mitad de ellos, estaban afectados menos de 4 ganglios (pN1) (Tablas XXXV y XXXVI).

16.- Serie de CM Femenino: RELACIÓN ENTRE TAMAÑO TUMORAL, AFECTACIÓN AXILAR Y EDAD.

% CM con Axila Positiva	Tamaño CM hasta 2 cm	Tamaño CM > 2 cm y ≤ 3.5cm	Tamaño CM > 3.5 cm y ≤ 5cm	Tamaño CM > 5 cm
CM < 50 años	38,5 % (52)	61,3 % (65)	61,3 % (19)	84,2 % (16)
CM ≥ 50 años	30,8 % (116)	54,2 % (149)	69,8 % (60)	82,1 % (46)

Tabla XXXVII: Afectación ganglionar de la axila, en función del tamaño tumoral y edad.

El porcentaje de afectación axilar en las enfermas mayores de 50 años obedeció un patrón progresivo directamente proporcional al tamaño tumoral. No aconteció así en el grupo de pacientes menores de 50 años, en las que partiendo de un porcentaje de afectación ligeramente superior, no hubo diferencias en la proporción de afectación entre los 3 y los 5 cm. de tamaño tumoral (Tabla XXXVII).

17.- Serie de CM Femenino: AGRUPACIÓN POR ESTADIOS (AJCC 2003).

ESTADIOS (pTNM)	Nº Casos	%
Estadio I	342	29,4
Estadio II	514	44,2
Estadio III	279	24,0
Estadio IV	28	2,4
SERIE TOTAL	1163	100 %

Tabla XXXVIII: Clasificación por estadios TNM (AJCC 2003).

ESTADIOS (pTNM)	Nº Casos	%
Estadio I (T1No)	342	29,4
Estadio IIA (T0N1/T1N1/T2N0)	361	31,0
Estadio IIB (T2N1/T3No)	153	13,2
Estadio IIIA (ToN2/T1N2/T3N1&2)	155	13,3
Estadio IIIB (T4 N0&1&2)	38	3,3
Estadio IIIC (T4N3)	86	7,4
Estadio IV (cualquierTyN,M1)	28	2,4
SERIE TOTAL	1163	100 %

Tabla XXXIX: Clasificación por estadios TNM (AJCC 2003).

En las Tablas XXXVIII y XXXIX mostramos los Estadios TNM de la serie total, observando que 60 % de las enfermas de CM se corresponden con los Estadios I y IIA. Destacamos también que hasta un 2,4 % de las mujeres fueron diagnosticadas con enfermedad diseminada de inicio (Estadio IV).

18.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 25 AÑOS.

En esta gráfica mostramos la supervivencia global con un seguimiento máximo de 25 años sobre un total de 1303 enfermas de CM.

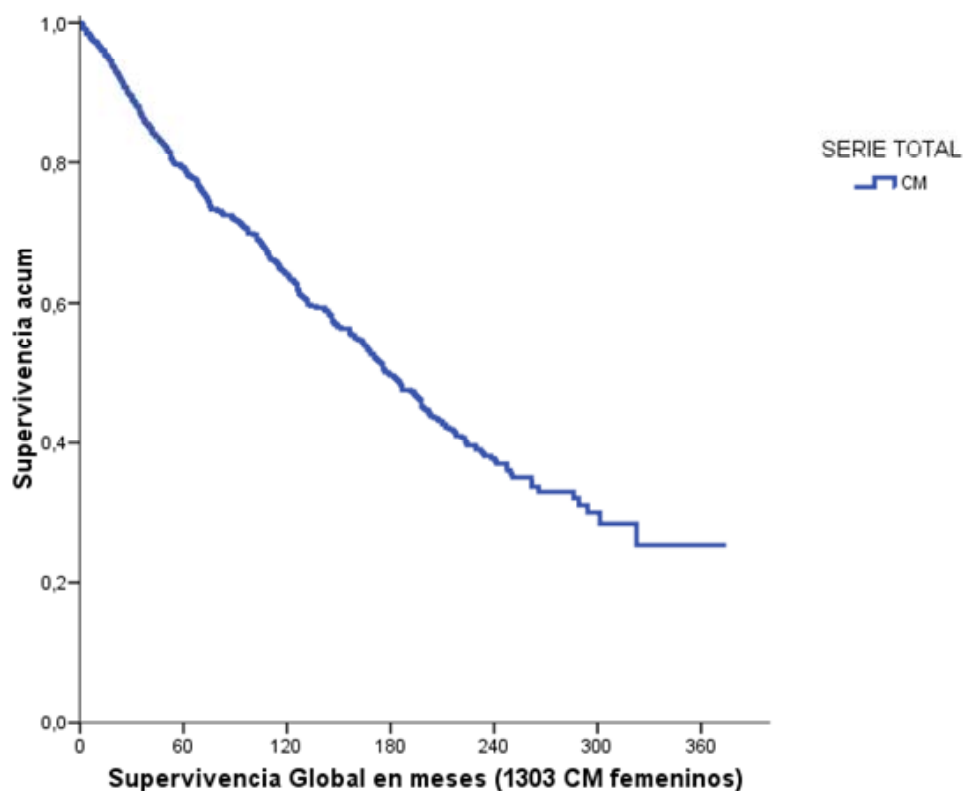


Figura 15: Curva de Supervivencia Global de la serie a 25 años de seguimiento.

En relación con la supervivencia global, durante este período se han registrado 447 muertes (34,3 %), habiendo sido censurados un total de 856 enfermas (65,5 %).

Media (I.C. 95%)	Mediana (I.C. 95%)	% Mortalidad
196,4 (185,3 – 207,5)	178,6 (162,4 – 194,7)	34,3

Tabla XL: Media y mediana en meses (I.C. 95 %) de la Supervivencia Global de la Serie a 25 años.

B. CLASIFICACIÓN MOLECULAR: SUBTIPOS DE CM.

1.- POSITIVIDAD DE LOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS UTILIZADOS EN LA SERIE TOTAL DE CM FEMENINOS.

SERIE TOTAL		Positivos
Receptor Estrógenos		74,8 % (986 de 1318)
Receptor Progesterona		41,0 % (540 de 1318)
HER2 (C-erbB2)		21,4 % (283 de 1320)
Marcadores de diferenciación basal	Citoqueratina CK 5	12,7 % (89 de 699)
	Citoqueratina CK 14	5,8 % (26 de 448)
	EGFR	4,7 % (21 de 445)
	p-cadherina	24,4 % (109 de 446)

Tabla XLI: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados en la serie total de CM femenino.

Luminal A		Positivos
Receptor Estrógenos		96,2 % (872 de 907)
Receptor Progesterona		64,0 % (580 de 907)
HER2 (C-erbB2)		0,0 % (0 de 907)
Marcadores de diferenciación basal	Citoqueratina CK 5	2,6 % (12 de 460)
	Citoqueratina CK 14	1,3 % (4 de 300)
	EGFR	0,3 % (1 de 298)
	p-cadherina	14,7 % (44 de 299)

Tabla XLII: Subtipo Luminal A: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados y positividad de los mismos.

Luminal B		Positivos
Receptor Estrógenos		92,7 % (139 de 150)
Receptor Progesterona		58,0 % (87 de 150)
HER2 (C-erbB2)		100,0 % (150 de 150)
Marcadores de diferenciación basal	Citoqueratina CK 5	7,8 % (5 de 64)
	Citoqueratina CK 14	5,7 % (2 de 35)
	EGFR	0,0 % (0 de 35)
	p-cadherina	37,1 % (13 de 35)

Tabla XLIII: Subtipo Luminal B: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados y positividad de los mismos.

HER 2 positivo		Positivos
Receptor Estrógenos		0,0 % (0 de 137)
Receptor Progesterona		0,0 % (0 de 137)
HER2 (C-erbB2)		100,0 % (137 de 137)
Marcadores de diferenciación basal	Citoqueratina CK 5	16,1 % (9 de 56)
	Citoqueratina CK 14	9,4 % (3 de 32)
	EGFR	18,8 % (6 de 32)
	p-cadherina	43,8 % (14 de 32)

Tabla XLIV: Subtipo HER2: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados y positividad de los mismos.

CM de tipo BASAL		Positivos
Receptor Estrógenos		0,0 % (0 de 78)
Receptor Progesterona		0,0 % (0 de 78)
HER2 (C-erbB2)		0,0 % (0 de 78)
Marcadores de diferenciación basal 100 %	Citoqueratina CK 5	82,1 % (64 de 78)
	Citoqueratina CK 14	29,8 % (17 de 57)
	EGFR	25,0 % (14 de 56)
	p-cadherina	69,7 % (39 de 56)

Tabla XLV: Subtipo CM tipo Basal: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados y positividad de los mismos.

CM TRIPLE NEGATIVO (con marcadores basales negativos)		Positivos
Receptor Estrógenos		0,0 % (0 de 47)
Receptor Progesterona		0,0 % (0 de 47)
HER2 (C-erbB2)		0,0 % (0 de 47)
Marcadores de diferenciación basal	Citoqueratina CK 5	0,0 % (0 de 41)
	Citoqueratina CK 14	0,0 % (0 de 24)
	EGFR	0,0 % (0 de 24)
	p-cadherina	0,0 % (0 de 24)

Tabla XLVI: Subtipo Triple Negativo: Marcadores inmunohistoquímicos utilizados y positividad de los mismos.

En las Tablas XLI–XLVI se reflejan los marcadores inmunohistoquímicos utilizados y el porcentaje de positividad de los mismos, en la serie total de CM femenino y en cada uno de los subtipos de la clasificación molecular^r.

2.- FRECUENCIA DE CM DE TIPO BASAL EN NUESTRO MEDIO.

El porcentaje de CM de tipo basal varía en relación con los marcadores utilizados. En nuestra serie total, hemos incluido (con la finalidad de aumentar el número de enfermas) un número importante de casos en los que teníamos definido su perfil molecular a través del estudio de receptores hormonales y HER2 (Luminal A, Luminal B y HER2), que no precisaban para su clasificación molecular del estudio de los marcadores de diferenciación basal.

Serie CM TOTAL	CM no basales				CM de Tipo Basal
N = 1320 ENFERMAS	94,1 % (1242)				5,9 % (78)
	Luminal A	Luminal B	HER2	Todo negativo	
	68,8 % (908)	11,4 % (150)	10,4 % (137)	3,6 % (47)	

Tabla XLVII: Clasificación en subtipos moleculares de la serie total de CM femenino.

Al analizar los diferentes subtipos de CM, pudimos observar en nuestra serie total (1320 CM) de cánceres femeninos que el porcentaje obtenido de CM de tipo basal era del 5,9%. El subtipo más frecuente fue el Luminal A (69%) y el menos frecuente el triple negativo (3,6%) (Tabla XLVII).

Si estudiamos de una manera más específica, solamente aquellos CM en los que se pudieron estudiar los 4 marcadores basales utilizados, a través de la técnica de microarrays (443 CM), el porcentaje de CM de Tipo Basal alcanza el 12,4 % (Tabla XLVIII).

Si utilizamos cuatro "marcadores combinados" de diferenciación basal	CM no basales				CM de Tipo Basal
CK5, CK14, EGFR y p-Cadherina SERIE MICROARRAYS (n = 443)	87,6 % (388)				12,4 % (55)
	Luminal A n = 297	Luminal B n = 35	HER2 n = 32	Todo Negativo n = 24	
	67,0 %	7,9 %	7,2	5,4 %	

Tabla XLVIII: Frecuencia del CMTB en la serie estudiada mediante Tissue MicroArrays (incluye el estudio combinado de 4 marcadores de diferenciación basal).

SI LOS MARCADORES BASALES SÓLO SE UTILIZAN DE UNA MANERA INDIVIDUAL	CM no basales				CM de Tipo Basal
Citoqueratina CK 5 n = 699	90,8 % (635)				9,2 % (64)
	Luminal A n = 460	Luminal B n = 64	HER2 n = 56	Todo Negativo n = 55	
	65,8 %	9,2 %	8,0 %	7,9 %	
SI LOS MARCADORES BASALES SÓLO SE UTILIZAN DE UNA MANERA INDIVIDUAL	CM no basales				CM de Tipo Basal
p-Cadherina n = 445	91,2 % (406)				8,5 % (38)
	Luminal A n = 299	Luminal B n = 35	HER2 n = 32	Todo Negativo n = 41	
	67,2 %	7,9 %	72 %	9,2 %	
SI LOS MARCADORES BASALES SÓLO SE UTILIZAN DE UNA MANERA INDIVIDUAL	CM no basales				CM de Tipo Basal
Citoqueratina CK 14 n = 448	96,2 % (431)				3,8 % (17)
	Luminal A n = 300	Luminal B n = 35	HER2 n = 32	Todo Negativo n = 64	
	67,0 %	7,8 %	7,1 %	14,3 %	
SI LOS MARCADORES BASALES SÓLO SE UTILIZAN DE UNA MANERA INDIVIDUAL	CM no basales				CM de Tipo Basal
EGFR n = 445	96,9 % (431)				3,1 % (14)
	Luminal A n = 298	Luminal B n = 35	HER2 n = 32	Todo Negativo n = 66	
	67,0 %	7,9 %	7,2 %	14,8 %	

Tabla XLIX: Clasificación en subtipos moleculares de la serie total de CM, CM femenino y CM varones.

Cuando investigamos el porcentaje de CM de Tipo Basal que se obtiene si sólo utilizáramos un único marcador de diferenciación basal de manera individual y exclusiva (Tabla XLIX), los porcentajes obtenidos oscilarían entre el 9,2% y el 3,1%.

La citoqueratina 5 es el marcador basal que nos permite identificar un porcentaje más elevado (9,2%) de CM de tipo basal, seguidos de la p-cadherina (8,8%). Si hubiéramos utilizado de manera individual la citoqueratina 14 o el EGFR como únicos marcadores basales solamente clasificaríamos como CM de Tipo Basal al 3,8 % y al 3,1 % de los CM, respectivamente.

C. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS VARIABLES ENTRE LOS DIFERENTES SUBTIPOS MOLECULARES DE CM.

1.- CM BASAL versus CM NO BASALES: EDAD.

	EDAD MEDIA (D.S.)	Significación bilateral	Valor de t	G. de libertad	Diferencia de Medias
CM Tipo BASAL n = 78	56,72 años (16,00)	p = 0,03	-2,240	1318	-3,445
CM no basales n = 1242	60,16 años (13,64)				

Tabla L: Comparación de la variable edad entre CM Basal y CM no basales.

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
EDAD MEDIA (D.S.)	61,08 años (13,65)	57,74 años (13,30)	57,14 años (13,10)	56,72 años (16,05)	59,06 años (14,11)
rango	28-96 años	32-90 años	30-95 años	28-94 años	27-82 años

Tabla LI: Edad media y D.S. de las pacientes en los diferentes subtipos de la clasificación molecular.

La edad media (56,7 años) de los CMTB es significativamente inferior a la del resto de los CM no basales, considerados globalmente ($p = 0,03$) (Tabla L).

Si utilizamos cuatro marcadores de diferenciación basal - combinados -		CM no basales	CM de Tipo Basal
< 50 años (n = 114)	CK5, p-Cadherina, CK14 y EGFR	84,2 % (96)	15,8 % (18)
≥ 50 años (n = 329)	CK5, p-Cadherina, CK14 y EGFR	88,8 % (292)	11,2 % (37)

p > 0,05

Tabla LII: Estudio comparativo de la frecuencia de CMTB y CM no basales entre los grupos < y > de 50 años.

Si analizamos de una manera más específica, solamente aquellos CM en los que se pudo estudiar los 4 marcadores basales utilizados, a través de la técnica de microarrays, se observa un porcentaje más elevado de CM de tipo basal (15,8 %) en las mujeres más jóvenes que en las mayores de 50 años (11,2 %), pero estas diferencias no alcanzan significación estadística ($p > 0,05$) (Tabla LII).

2.- CM BASAL versus CM NO BASALES: LOCALIZACIÓN, BILATERALIDAD, MULTIFOCALIDAD y MULTICENTRICIDAD.

	Derecha	Izquierda
CM Tipo BASAL n = 78	37,7 %	62,3 %
CM no basales n = 1198	48,3 %	51,7 %

p > 0,05

Tabla LIII: Estudio comparativo de la lateralidad de los tumores entre CMTB y CM no basales.

	Unilaterales	Bilaterales
CM Tipo BASAL n = 78	93,6 % (n = 73)	6,4 % (n = 5)
CM no basales n = 1242	91,4 % (n = 1135)	8,6 % (n = 107)

p > 0,05

Tabla LIV: Estudio comparativo de la bilateralidad de los tumores entre CMTB y CM no basales.

En relación con la lateralidad del tumor, no observamos diferencias entre los CM basales y no basales; ambas series muestran un discreto predominio de la mama izquierda (Tabla LIII). Lo mismo sucede al analizar la bilateralidad (Tabla LIV).

Dentro de la propia glándula mamaria, y dividiéndola anatómicamente en cuadrantes, tampoco se observaron diferencias en la ubicación del CM ($p > 0,05$). Las pequeñas diferencias observadas en relación con la presencia de neoplasias difusas (ocupando al menos dos cuadrantes), la multifocalidad y/o la multicentricidad tampoco alcanzaron diferencias significativas ($p > 0,05$). El porcentaje de neoplasias malignas que ocupaban al menos dos o más cuadrantes de la mama fue del 8,5% en los CM basales y del 3,5% en los no basales ($p > 0,05$).

Serie de CM n = 1111	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Todo negativo
MULTIFOCAL/ MULTICÉNTRICO	10,6 %	7,4 %	15,1 %	5,1 %	17,1 %

p > 0,05

Tabla LV: Estudio comparativo de la multifocalidad/multicentricidad de los tumores entre CMTB y CM no basales.

En lo referente a la multifocalidad / multicentricidad tampoco se observaron diferencias significativas entre los CMTB y los CM no basales. Sólo el 5,1 % de los CM basales fueron multicéntricos o multifocales frente al 11 % de la serie total de los CM no basales ($p > 0,05$) (Tabla LV).

3.- CM BASAL versus CM NO BASALES: HISTORIA OBSTÉTRICA.

Historia Obstétrica	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Edad de la menarquia	14,00 años (1,91) n = 24	13,83 años (1,83) n = 202	N.S.
Nº de gestaciones	3,30 (1,52) n = 20	2,66 (1,97) n = 212	N.S.
Nº de partos a término	3,05 (1,46) n = 20	2,33 (1,73) n = 211	N.S.
Nº de abortos	0,30 (0,73) n = 20	0,34 (0,73) n = 209	N.S.
Edad en el parto (1er. Hijo)	22,91 años (2,66) n = 11	25,96 años (4,96) n = 107	p = 0,04

Tabla LVI: Estudio comparativo de los antecedentes obstétricos de las pacientes entre CMTB y CM no basales.

En la Tabla LVI se muestra la comparación entre los antecedentes obstétricos de las pacientes. No existen diferencias significativas ($p > 0,05$) al comparar la edad de la menarquia, el número de gestaciones, partos a término o abortos entre los CM tipo basal y los CM no basales. Sí encontramos diferencia al comparar la edad en el parto del

primer hijo, resultando sensiblemente inferior (22,9 años) en los CM basales frente a los CM no basales ($p = 0,04$).

Edad en el parto en años (1er. Hijo)	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Serie de CM < 50 años	21,00 años (0,0) n = 2	24,66 años (5,13) n = 41	N.S.
Serie de CM ≥ 50 años	23,33 años (2,78) n = 9	26,77 años (2,78) n = 66	p = 0,03

Tabla LVII: Estudio comparativo del factor de riesgo "edad en el primer parto" de las pacientes entre CMTB y CM no basales, en relación a dos grupos etarios con un punto de corte a los 50 años.

Al analizar esta última variable, entre los dos grupos etarios con punto de corte a los 50 años, comprobamos que la edad en el parto del primer hijo es inferior en los CMTB frente a los CM no basales, pero sólo alcanza significación estadística en el grupo de mujeres que desarrolló su CM después de los 50 años ($p = 0,03$) (Tabla LVII).

4.- CM BASAL versus CM NO BASALES: AGREGACIÓN FAMILIAR DE CM.

Agregación Familiar de CM	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Al menos un familiar con CM	51,7 % (15 de 29)	36,1 % (110 de 305)	N.S.
Al menos un familiar en 1er grado con CM	37,9 % (11 de 29)	22,6 % (69 de 305)	N.S.
CM HEREDITARIO	17,2 % (5 de 29)	4,3 % (13 de 305)	p = 0,003

Tabla LVIII: Estudio comparativo de la agregación familiar de las pacientes entre CMTB y CM no basal.

CM HEREDITARIO	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Serie de CM < 50 años	11,1 % (1 de 9)	2,6 % (2 de 78)	N.S.
Serie de CM ≥ 50 años	20,0 % (4 de 20)	4,8 % (11 de 227)	p = 0,02

Tabla LIX: Estudio comparativo del CM hereditario en pacientes menores y mayores de 50 años, entre CMTB y CM no basal.

Cuando analizamos la agregación familiar entre CM Basal y CM no basales, comprobamos que es superior en los primeros, aunque sólo tiene significación estadística ($p < 0,05$) en los casos donde se reconoce un claro patrón hereditario. En estos, encontramos una frecuencia 4 veces superior de CMTB con respecto a los CM no basales (17,2 % vs. 4,3 %) (Tabla LVIII).

En la Tabla LIX se demuestra cómo es esa diferencia (del CM hereditario) en los grupos de edad con un punto de corte de 50 años. A pesar de ser más frecuente el CMTB que el CM no basal en ambos segmentos de edad, sólo tenemos significación estadística en el grupo que desarrollan el CM después de los 50 años.

5.- CM BASAL versus CM NO BASALES: ASOCIACIÓN DEL CM CON OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS.

	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
CM y BASALIOMA	1,3 % (1 de 78)	1,7 % (21 de 1242)	N.S.

Tabla LX: Comparación de la frecuencia de la asociación CM – Basalioma, entre CMTB y CM no basal.

CM y BASALIOMA	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Serie de CM < 50 años	0 % (0 de 27)	1 % (3 de 313)	N.S.
Serie de CM ≥ 50 años	2 % (1 de 51)	1,9 % (18 de 929)	N.S.

Tabla LXI: Comparación de la frecuencia de la asociación CM – Basalioma entre CMTB y CM no basales, en relación a los grupos de edad mayor y menor de 50 años.

	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
CM y otro Cáncer Se excluyen los BASALIOMAS y CM bilateral	6,4 % (5 de 78)	5,8 % (72 de 1242)	N.S.

Tabla LXII: Comparación de la frecuencia de la asociación CM – otro Cáncer, entre CMTB y CM no basales.

CM y otro Cáncer Se excluyen los BASALIOMAS y CM bilateral	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Serie de CM < 50 años	7,4 % (2 de 27)	1,9 % (6 de 313)	N.S.
Serie de CM ≥ 50 años	5,9 % (3 de 51)	7,1 % (66 de 929)	N.S.

Tabla LXIII: Comparación de la frecuencia de la asociación CM – otro Cáncer entre CMTB y CM no basales, en relación a los grupos de edad mayor y menor de 50 años.

No hemos encontrado ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el CM basal y no basal en relación a la asociación con otras neoplasias malignas, tanto en la serie total como en el análisis realizado por grupos de edad (menores o mayores de 50 años) (Tablas LX-LXIII).

6.- CM BASAL versus CM NO BASALES: GRUPOS SANGUÍNEOS.

Grupo Sanguíneo	O (+)	O (-)	A (+)	A (-)	B (+)	B (-)	AB(+)	AB(-)
CM no basales n = 15	34,5 %	6,0 %	43,7 %	8,6 %	5,3 %	1,3 %	0,7 %	0,0 %
CM tipo basal n = 151	26,7 %	6,7 %	53,5 %	0,0 %	6,7 %	0,0 %	0,0 %	6,7 %

p > 0,05

Tabla LXIV: Grupos sanguíneos de las pacientes sobre muestreo aleatorio. Serie CM femenino.

No hemos encontrado ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el CM basal y no basal en relación con los grupos sanguíneos de las pacientes (Tabla LXIV).

7.- CM BASAL versus CM NO BASALES: GRADO DE DIFERENCIACIÓN (BLOOM-RICHARDSON).

GRADO B-R Serie Total	Grado I Bien diferenciado	Grado II Moderadamente diferenciado	Grado III Pobrementemente diferenciado
CM Tipo BASAL n = 78	0 % (0)	3,8% (3)	96,2% (75)
CM no basales n = 1106	24,6% (272)	40,8% (451)	34,6% (383)

p < 0,001

Tabla LXV: Serie total: Estudio comparativo del grado de diferenciación entre CM Basal y CM no basales.

GRADO B-R Serie Revisada	Grado I Bien diferenciado	Grado II Moderadamente diferenciado	Grado III Pobrementemente diferenciado
CM Tipo BASAL n = 55	0 % (0)	3,6% (2)	96,4% (53)
CM no basales n = 382	20,4% (78)	34,8% (133)	44,8% (171)

p < 0,001

Tabla LXVI: Serie revisada: Estudio comparativo del grado de diferenciación entre CM Basal y CM no basales.

Cuando comparamos el grado de diferenciación entre los CM Basales y no basales, observamos diferencias significativas independientemente de la serie analizada ($p < 0,001$). En los CMTB existe un predominio casi absoluto de tumores pobremente diferenciados: más del 96 % de los CM Basales fueron grado III en ambas series (Tablas LXV y LXVI).

8.- CM BASAL versus CM NO BASALES: DIFERENCIACIÓN TUBULAR, PLEOMORFISMO NUCLEAR y ACTIVIDAD MITÓTICA.

Diferenciación TUBULAR Serie total n =437	I ≥ 75 %	II 10 - 75 %	III < 10 %
CM Tipo BASAL n = 55	0 % (0)	12,7% (7)	87,3% (48)
CM no basales n = 382	19,1% (73)	35,9% (137)	45,0% (172)

p < 0,001

Tabla LXVII: Estudio comparativo de la diferenciación tubular entre CM Basal y CM no basales.

Pleomorfismo NUCLEAR Serie total 437	I mínima	II moderado	III marcado
CM Tipo BASAL n = 55	0 % (0)	1,8% (1)	98,2% (54)
CM no basales n = 382	6,0% (23)	19,9% (76)	74,1% (283)

p < 0,001

Tabla LXVIII: Estudio comparativo del Pleomorfismo nuclear entre CM Basal y CM no basales.

MITOSIS x 10CGA Serie total 437	I (0-5) x 10 CGA	II (6-10) x 10 CGA	III (> 11) x 10 CGA
CM Tipo BASAL n = 55	1,8 % (1)	9,1% (5)	89,1% (49)
CM no basales n = 382	33,8% (129)	22,0% (84)	44,2% (169)

p < 0,001

Tabla LXIX: Estudio comparativo de la actividad mitótica entre CM Basal y CM no basales.

Al analizar la diferenciación tubular, el pleomorfismo nuclear y el conteo de mitosis entre el CM Basal y los CM no basales, encontramos diferencias muy significativas ($p < 0,001$) en estos tres parámetros. Los CM Basales presentan una menor diferenciación tubular y mayor pleomorfismo nuclear y recuento de mitosis con respecto a los CM no basales (Tablas LXVII-LXIX).

9.- CM BASAL versus CM NO BASALES: TIPOS HISTOLÓGICOS.

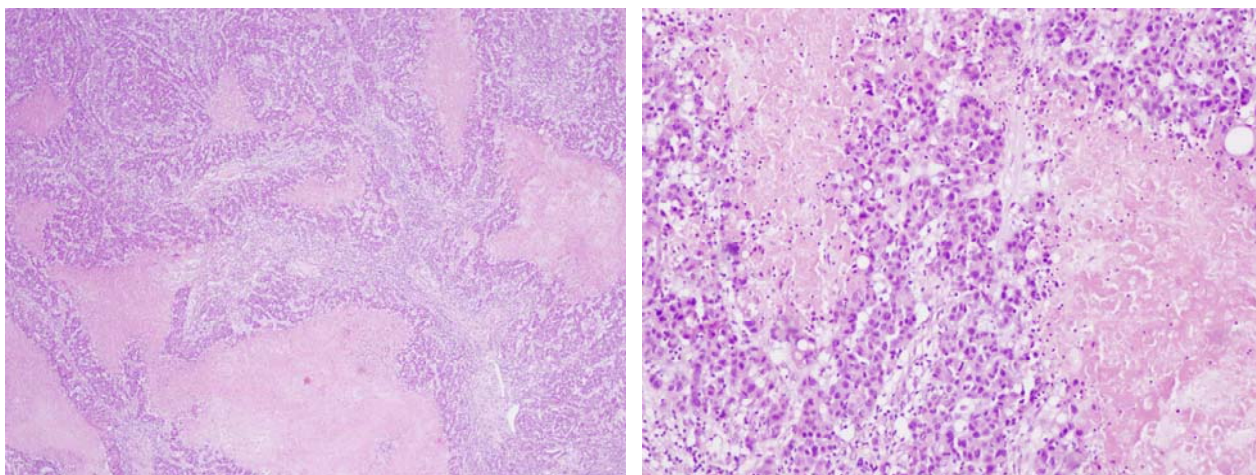
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
CDI NOS * (hileras + necrosis)	49.1 % (27 de 55)	8,5 % (13 de 388)	p < 0,001
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Carcinoma Metaplásico	7.3 % (4 de 55)	0,3 % (1 de 388)	p < 0,001
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Carcinoma Medular	5.5 % (3 de 55)	0,3 % (1 de 388)	N.S.

Tabla LXX: Estudio comparativo de los subtipos histológicos mas asociados a CMTB entre CM Basales y CM no basales.

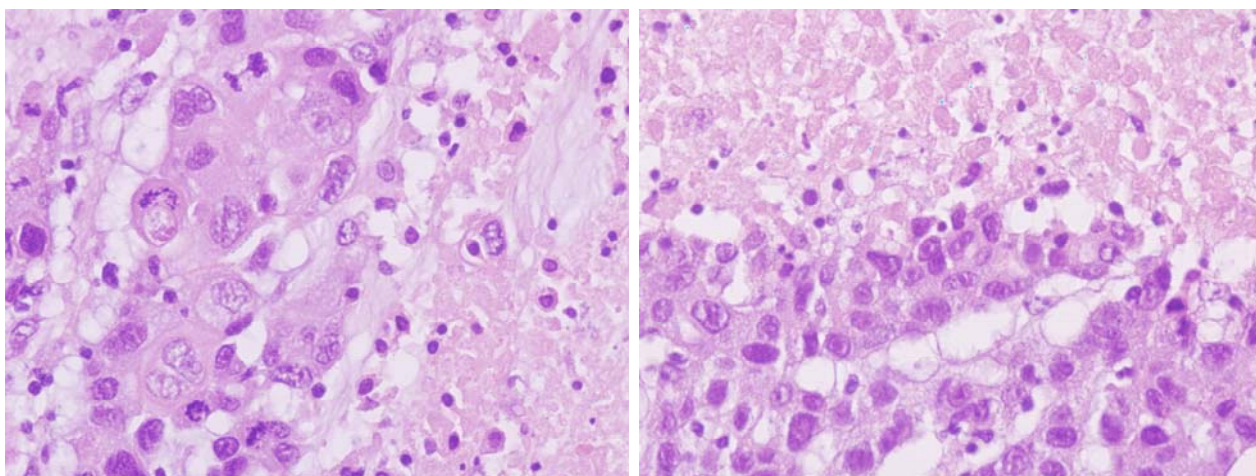
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Carcinoma Lobulillar Infiltrante	0 % (0 de 55)	5,1 % (19 de 388)	N.S.
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Carcinoma Mucinoso (Coloide)	0 % (0 de 55)	3,5 % (13 de 388)	N.S.
	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Carcinoma Tubular	0 % (0 de 55)	1,1 % (4 de 388)	N.S.

Tabla LXXI: Estudio comparativo de los subtipos histológicos menos asociados a CMTB entre CM Basales y CM no basales.

Hemos estudiado la frecuencia de presentación de los diferentes tipos histológicos entre CMTB y CM no basales (Tablas LXX y LXXI). Comparativamente, existe una asociación muy significativa ($p < 0,001$) entre el CMTB y los subtipos “CDI NOS con hileras y necrosis”, y el carcinoma metaplásico. Con respecto a los otros subtipos estudiados, las diferencias encontradas no alcanzan significación estadística ($p > 0,05$).



Figuras 16 y 17: “CDI NOS con hileras y necrosis”. Imágenes histológicas representativas con extensas áreas de tejido necrótico y bandas de células neoplásicas sin diferenciación tubular.



Figuras 18 y 19: “CDI NOS con hileras y necrosis”. Imágenes histológicas representativas con células neoplásicas con marcado pleomorfismo nuclear y numerosas figuras de mitosis atípicas, dispuestas con un patrón sincitial (en hileras o bandas) y bordeando extensas áreas de necrosis.

Los CDI NOS que presentaban las características que se muestran en las Figuras 16-19, fueron catalogados como “**CDI NOS con hileras y necrosis**” y se asociaron de una manera muy significativa al fenotipo basal ($p < 0,001$).

10.- CM BASAL versus CM NO BASALES: PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO.

	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO	0 % (0 de 55)	4,4 % (17 de 386)	N.S.

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO	4,4 % (13 de 295)	5,7 % (2 de 35)	3,1 % (1 de 32)	0 % (0 de 55)	4,2 % (1 de 24)

p > 0,05

Tabla LXXII: Estudio comparativo de la presencia de componente intraductal extenso entre CMTB y CM no basales, y entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular.

Ninguno de los CM de Tipo Basal presentó un componente intraductal extenso asociado al componente infiltrativo del tumor, aunque sí lo comparamos con los CM no basales, o con los diferentes subtipos de la clasificación molecular, esta diferencia no alcanza significación estadística (Tabla LXXII).

11.- CM BASAL versus CM NO BASALES: PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN.

	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN	0 % (0 de 55)	2,8 % (11 de 387)	N.S.

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN	2,0 % (6 de 296)	2,9 % (1 de 35)	12,5 % (4 de 32)	0 % (0 de 55)	0 % (0 de 24)

p < 0,01

Tabla LXXIII: Estudio comparativo de la presencia de enfermedad de Paget del pezón entre CMTB y CM no basales, y entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular.

Tampoco encontramos diferencia al comparar la presencia de enfermedad de Paget del pezón entre los CMTB y los CM no basales. Si analizamos este parámetro entre los diferentes subtipos sí se alcanzó significación estadística ($p < 0,01$), observándose una clara asociación entre la presencia de enfermedad de Paget y el subtipo HER2 (12,5 %) (Tabla LXXIII).

12.- CM BASAL versus CM NO BASALES: EXPRESIÓN DE Ki67, p53 y E-Cadherina.

Ki-67	Ki67 < 10 %	Ki67 ≥ 10 y < 20 %	Ki67 ≥ 20 %
CM Tipo BASAL n = 21	0 % (0)	0 % (0)	100 % (21)
CM no basales n = 1106	33,6% (280)	26,5% (221)	39,9% (353)

p < 0,001

Tabla LXXIV: Estudio comparativo del índice de proliferación Ki67 entre CM Basal y CM no basales.

e-cadherina	Negativa	Positiva
CM Tipo BASAL n = 12	0 % (0)	100 % (12)
CM no basales n = 246	13,4 % (33)	86,6 % (213)

p < 0,001

Tabla LXXV: Estudio comparativo de la expresión de E-Cadherina entre CM Basal y CM no basales.

Todos los casos de CM Basal tuvieron un alto *índice proliferativo* (> 20 %), lo cual contrastó significativamente (p < 0,001) al comparar con los CM no basales (Tabla LXXIV).

La expresión de la *proteína p53* sólo fue valorada en 3 CM Basales (resultando positiva en dos de ellos: 66,7 %). Este escaso número de casos hace poco fiable un estudio comparativo con los CM no basales (valorada en 574 casos y positiva en 88: 15,4 %).

La expresión de *E- Cadherina* fue positiva en el 100 % de los CM Basales en los que se estudió, resultando significativa la comparación con los CM no basales (86,6 %) (Tabla LXXV).

13.- CM BASAL versus CM NO BASALES: TAMAÑO TUMORAL.

	TAMAÑO TUMORAL (D.S.)	Significación bilateral	Valor de t	G. de libertad	Diferencia de Medias
CM Tipo BASAL n = 72	3,58 cm (1,74)	p = 0,001	-4,453	1193	-0,9635
CM no basales n = 1242	2,62 cm (1,74)				

Tabla LXXVI: Estudio comparativo del tamaño tumoral medio entre CM Basal y CM no basales.

TAMAÑO TUMORAL (D.S.)	CM Tipo BASAL	CM no basales	Nivel de significación
Serie de CM < 50 años	3,46 cm (1,75)	2,60 cm (1,69)	p = 0,019
Serie de CM ≥ 50 años	3,64 cm (1,75)	2,62 cm (1,76)	p < 0,001

Tabla LXXVII: Estudio comparativo del tamaño tumoral medio entre CM Basal y CM no basales, entre los grupos de edad menores y mayores de 50 años.

Serie total de CM	pT1 (hasta 2 cm)	pT2 (> 2 cm y ≤ 5cm)	pT3 (> 5 cm)	pT4 (extensión directa pared tórax o piel)
CM Tipo BASAL n = 73	17,8 % (13)	67,1 % (49)	8,2 % (6)	6,8 % (5)
CM no basales n = 1205	48,3 % (547)	42,2 % (478)	5,8 % (66)	3,6 % (41)

p < 0,001

Tabla LXXVIII: Estudio comparativo del tamaño tumoral pT entre CM Basal y CM no basales.

El tamaño tumoral medio fue significativamente superior en los CM Basales (3, 58 cm.) frente a los CM no basales (2,62 cm.), y esta diferencia se mantuvo al comparar también el tamaño tumoral medio entre los dos grupos de edad con punto de corte a los 50 años (Tablas LXXVI y LXXVII).

También resultó estadísticamente significativa ($p < 0,001$) la comparación de los tamaños tumorales pT entre ambos grupos de CM. El 67,1 % de los CM basales son

tumores pT2, mientras que en los no basales el mayor grupo es del pT1 (48,3 %). (Tabla LXXVIII).

14.- CM BASAL versus CM NO BASALES: AFECTACIÓN GANGLIONAR LINFÁTICA.

AFECTACIÓN GANGLIONAR pN	CM Tipo BASAL	CM no basales
pN0 (Axila negativa)	41,5 % (27)	51,7 % (557)
pN0 (i+) Céls tum. aisladas en axila	0,0 % (0)	0,5 % (5)
pN0 (i+) Céls tumoral aisladas CMI	0,0 % (0)	0,1 % (1)
pN1mic	3,1 % (2)	1,9 % (21)
pN1a	26,2 % (17)	25,0 % (269)
pN2a	16,9 % (11)	13,1 % (141)
pN3a	9,2 % (6)	7,3 % (79)
pN3b	3,1 % (2)	0,0 % (0)
pN3c	0,0 % (0)	0,4 % (4)

p > 0,05

Tabla LXXIX: Estudio comparativo de la afectación ganglionar pN entre CM Basal y CM no basales.

Axila	POSITIVA	NEGATIVA	NO EVALUADA
CM Tipo BASAL n = 73	52,1 % (38)	37,0 % (27)	9,2 % (111)
CM no basales n = 1206	43,9 % (529)	46,9 % (566)	11,0% (8)

p > 0,05

Tabla LXXX: Estudio comparativo de la afectación ganglionar entre CM Basal y CM no basales.

Nº de ganglios linfáticos axilares	CM Tipo BASAL n = 65	CM no basales n = 1078	Nivel de significación
INFILTRADOS (Media y D.S.)	3,32 (5,18)	2,46 (4,83)	N.S.
DISECADOS (Media y D.S.)	11,48 (6,42)	13,05 (7,22)	N.S.

Tabla LXXXI: Estudio comparativo de los ganglios linfáticos axilares infiltrados y disecados entre CM Basal y CM no basales.

Axila	NEGATIVA	1 a 3 ganglios (+)	≥ 4 ganglios (+)
CM Tipo BASAL n = 39	46,2 % (18)	25,6 % (10)	28,2 % (11)
CM no basales n = 1053	53,6 % (564)	25,5 % (269)	20,9% (220)

p > 0,05

Tabla LXXXII: Grado de diferenciación de los tumores en la serie total de CM.

En los CM Basales se observó una mayor proporción de afectación ganglionar, sin embargo no se alcanzó significación estadística al comparar con los CM no basales, tanto en la clasificación pN (58,5 % Vs. 48,3) como en la positividad o negatividad de la axila (52,1 % Vs. 43,9 %) (Tablas LXXIX y LXXX).

Tampoco encontramos diferencias al comparar el número de ganglios linfáticos axilares infiltrados, disecados, ni segmentando el grupo con afectación nodal axilar con un punto de corte en tres ganglios positivos (Tablas LXXXI y LXXXII).

15.- CM BASAL versus CM NO BASALES: RELACIÓN ENTRE TAMAÑO TUMORAL Y AFECTACIÓN GANGLIONAR AXILAR.

% Axila (+)	Tamaño del CM hasta 2 cm	Tamaño del CM > 2cm y ≤ 3.5cm	Tamaño del CM > 3.5cm y ≤ 5cm	Tamaño del CM > 5 cm
CM Tipo BASAL	54,5 % (6)	48,3 % (14)	62,5 % (10)	87,5 % (7)
CM no basales	32,3 % (162)	56,8 % (200)	68,3 % (69)	82,1 % (55)
Nivel de significación	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Tabla LXXXIII: Estudio comparativo de la afectación ganglionar axilar en relación al tamaño tumoral entre CM basales y CM no basales.

En los CM no basales encontramos un porcentaje de afectación axilar que crecía progresivamente con el tamaño tumoral (32,3 % en tumores < 2 cm., hasta 82,1 % en tumores de > de 5 cm.). En contraposición, en los CM Basales no se apreció este

patrón, destacando un porcentaje de afectación ganglionar del 54,5 % en tumores menores de 2 cm. Las diferencias entre CM Basal y CM no basales, por grupos de tamaño tumoral, no alcanzaron significación estadística (Tabla LXXXIII).

16.- CM BASAL versus CM NO BASALES: AGRUPACIÓN POR ESTADIOS (AJCC 2003).

ESTADIOS (pTNM)	CM Tipo BASAL n = 74	CM no basales n = 1089
Estadio I	6,8 % (5)	30,9 % (337)
Estadio II	60,8 % (45)	43,0 % (469)
Estadio III	32,5 % (24)	23,4 % (255)
Estadio IV	0,0 % (0)	2,6 % (28)

p < 0,001

Tabla LXXXIV: Estudio comparativo de los Estadios TNM (AJCC 2003) entre CM Basal y CM no basales.

ESTADIOS (pTNM)	CM Tipo BASAL n = 74	CM no basales n = 1089
Estadio I (T1N0)	6,8 % (5)	30,9 % (337)
Estadio IIA (T0N1/T1N1/T2N0)	44,6 % (33)	30,1 % (328)
Estadio IIB (T2N1/T3N0)	16,2 % (12)	12,9 % (141)
Estadio IIIA (T0N2/T1N2/T3N1&2)	18,9 % (14)	12,9 % (141)
Estadio IIIB (T4 N0&1&2)	4,1 % (3)	3,2 % (35)
Estadio IIIC (T4N3)	9,5 % (7)	7,3 % (79)
Estadio IV (cualquierTyN,M1)	0,0 % (0)	2,6 % (28)

p < 0,001

Tabla LXXXV: Estudio comparativo de los Estadios TNM (AJCC 2003) entre CM Basal y CM no basales.

En las Tablas LXXXIV y LXXXV podemos observar como se encontró un mayor porcentaje de enfermas en Estadios II y III (y menor de Estadios I) entre los CM

Basales, lo cual representó una diferencia significativa al comparar con los CM no basales ($p < 0,001$).

17.- CM BASAL versus CM NO BASALES: RECIDIVA LOCAL.

	CM Tipo Basal	CM no basales	Nivel de significación
RECIDIVA LOCAL	5,1 % (4 de 78)	4,2 % (52 de 1242)	N. S.

Tabla LXXXVI: Estudio comparativo de la Recidiva Local entre CM Basal y CM no basales.

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
RECIDIVA LOCAL	3,6 % (33 de 998)	4,7 % (7 de 150)	6,6 % (9 de 137)	5,1 % (4 de 78)	6,4 % (3 de 47)

$p > 0,05$

Tabla LXXXVII: Estudio comparativo de la Recidiva Local entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular.

RECIDIVA LOCAL	CM Tipo Basal	Otros CM (no basales)	Nivel de significación
CM HEREDITARIO	40,0 % (2 de 5)	7,7 % (1 de 13)	$p < 0,05$
CM NO HEREDITARIO	4,2 % (1 de 24)	7,2 % (21 de 292)	N.S.

Tabla LXXXVIII: Estudio comparativo de la Recidiva Local en CM hereditario entre CM Basal y CM no basales.

Cuando estudiamos la aparición de recidiva local no encontramos diferencias significativas entre CM Basal y CM no basales (Tabla LXXXVI). Tampoco existen diferencias significativas entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular, donde

el subtipo que se asoció a menor frecuencia de RL fue el Luminal A (3,6 %) y el que tuvo la mayor frecuencia fue el HER2 (6,6 %) (Tabla LXXXVII).

Si analizamos este mismo parámetro en el CM con patrón Hereditario, la recurrencia local fue significativamente superior ($p < 0,05$) en los CM Basales con respecto a los CM no basales (40 % Vs. 7,7 %). Dentro de los CM Basales, observamos como la RL local fue 10 veces mayor en los casos con patrón hereditario demostrado (40 % Vs. 4,4 %), no existiendo apenas variación en los CM no basales (Tabla LXXXVIII).

18.- CM BASAL versus CM NO BASALES: PATRÓN DE METASTATIZACIÓN.

	CM Tipo Basal	Otros CM (no basales)	Nivel de significación
Metástasis VISCERAL (con o sin otras localizaciones)	87,5 % (7 de 8)	67,0 % (71 de 106)	N. S.
Metástasis ÓSEAS (con o sin otras localizaciones)	50,0 % (4 de 8)	70,8 % (75 de 106)	N. S.
Metástasis CEREBRAL (con o sin otras localizaciones)	0,0 % (0 de 8)	9,4 % (10 de 106)	N. S.

Tabla LXXXIX: Estudio comparativo del patrón de metastatización entre CM Basal y CM no basales.

Entre las enfermas que presentaron diseminación a distancia en su curso evolutivo, en las que pudimos valorar con exactitud su patrón de metastatización, hemos comprobado como el CM Basal presenta una mayor tendencia a desarrollar metástasis viscerales, comparado con los CM no basales y con el resto de subtipos moleculares.

	Luminal A	Luminal B	HER2	Tipo Basal	Triple negativo
Metástasis VISCERAL (con o sin otras localizaciones)	67,6 % (48 de 71)	62,5 % (10 de 16)	76,9 % (10 de 13)	87,5 % (7 de 8)	50,0 % (3 de 6)
Metástasis ÓSEAS (con o sin otras localizaciones)	70,4 % (50 de 71)	75,0 % (12 de 16)	69,2 % (9 de 13)	50,0 % (4 de 8)	66,7 % (4 de 6)
Metástasis CEREBRAL (con o sin otras localizaciones)	5,6 % (4 de 71)	12,5 % (2 de 16)	23,1 % (3 de 13)	0,0 % (0 de 8)	16,7 % (1 de 6)

p > 0,05

Tabla XC: Estudio comparativo del patrón de metastatización entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular de CM.

Lo contrario ocurre si consideramos las metástasis óseas y las cerebrales. El CM Basal presentó una frecuencia inferior para desarrollar metástasis óseas, al compararlo con los CM no basales, e individualmente con cada uno de los otros subtipos moleculares. Las metástasis óseas se desarrollaron preferentemente en los subtipos Luminales.

Si consideramos las metástasis cerebrales, no hemos observado su desarrollo en ninguna de las pacientes con CM Basal con patrón de metastatización estudiado. En este grupo destaca la frecuencia del 23,1 % (3 de 13 pacientes) del subtipo HER2.

En ninguno de estos estudios comparativos hallamos diferencias significativas, posiblemente debido al escaso número de pacientes incluidas en los CM Basales para su valoración (Tablas LXXXIX y XC).

D. ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA.

1.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS.

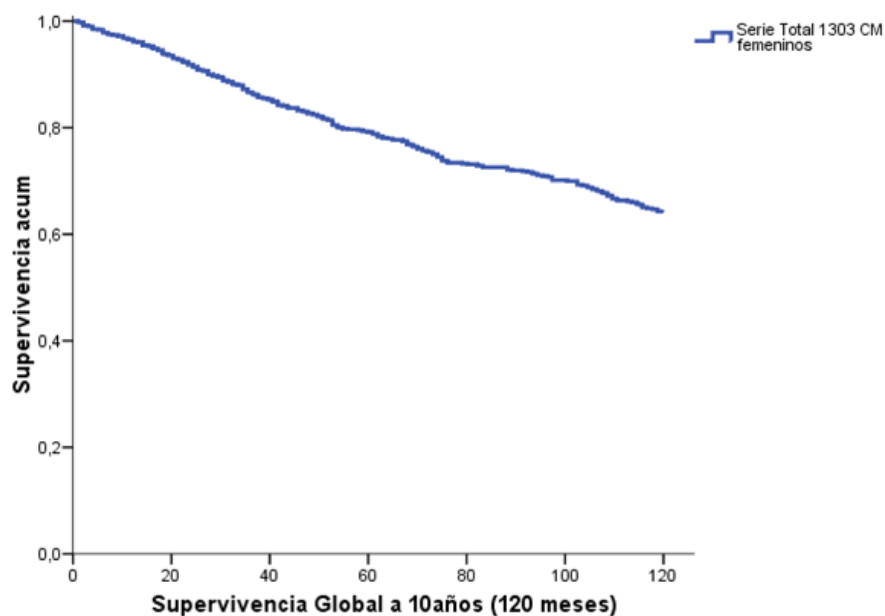


Figura 20: Curva de Supervivencia Global a 10 años de la serie de CM femenino.

Supervivencia media	(I.C. 95%)	% Mortalidad
96,64 meses	94,34 – 98,94	24,5

Tabla XCI: Supervivencia Global a 10 años (en meses) para el total de la muestra de CM femenino.

Del total de 1303 casos estudiados de la serie, se recogieron 319 muertes (24,5 %) dentro de los 10 años siguientes al diagnóstico de CM. Los casos restantes (censurados) permanecían vivos, o abandonaron el seguimiento clínico (984 enfermas: 75,5 %).

2.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN EDAD.

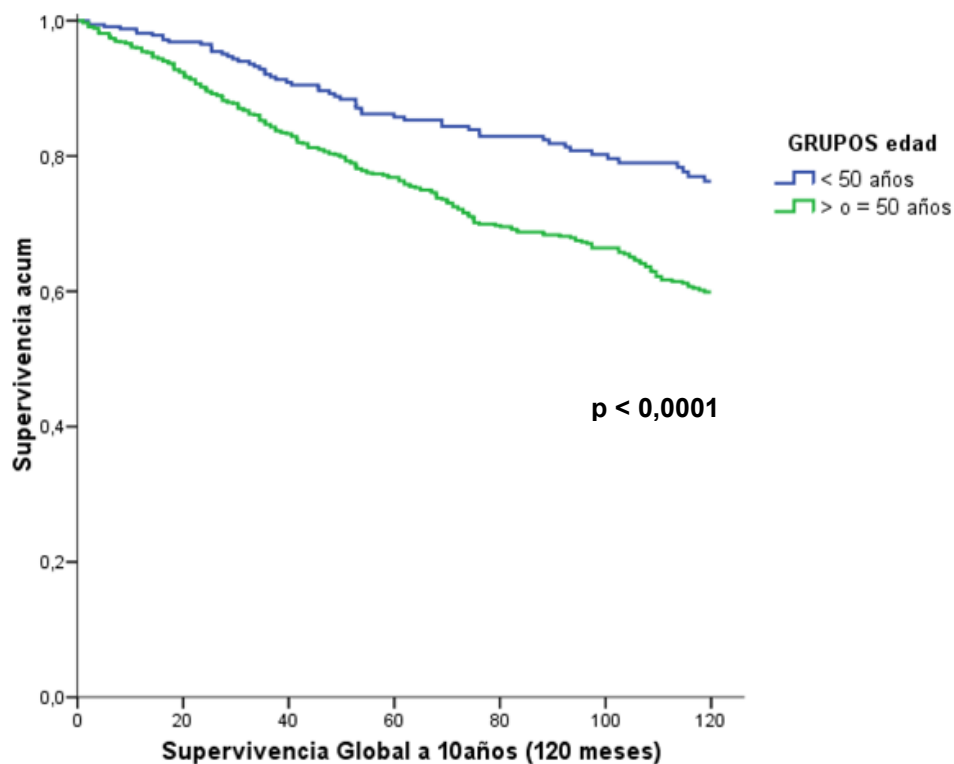


Figura 21: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función de grupos de edad.

Edad	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
< 50 años n= 336	105,2	101,4 – 108,9	55	16,4
≥ 50 años n= 967	93,5	90,7 – 96,3	264	27,3

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función de los grupos de edad menor y mayor de 50 años.

3.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN GRADO DE DIFERENCIACIÓN.

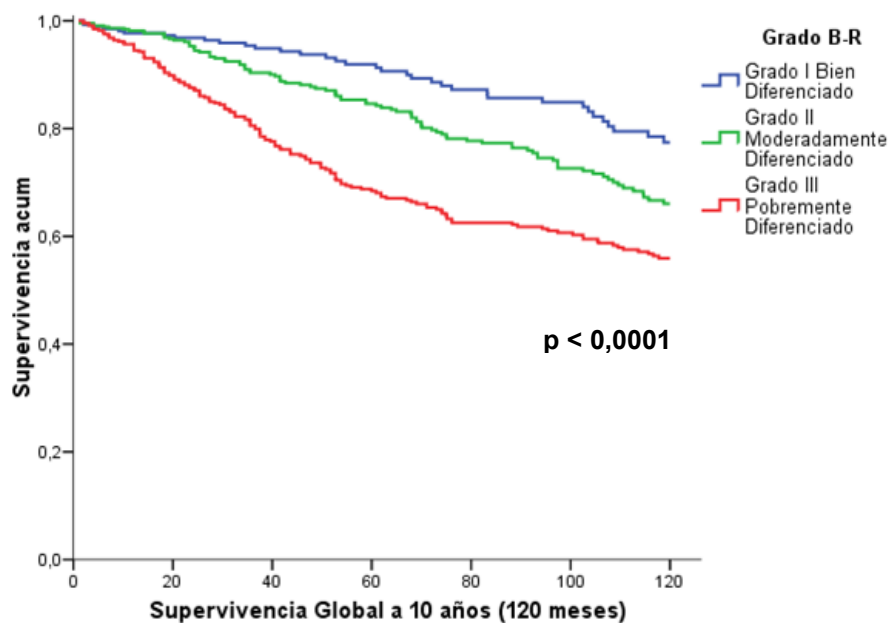


Figura 22: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función del grado de diferenciación B-R.

Grado B-R	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
Grado I n= 268	108,6	104,9 – 112,4	35	13,1
Grado II n= 447	101,0	97,4 – 104,6	94	21,0
Grado III n= 452	87,5	83,2 – 91,8	151	33,4

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCIII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función del grado de diferenciación tumoral B-R.

4.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN TAMAÑO TUMORAL (pT).

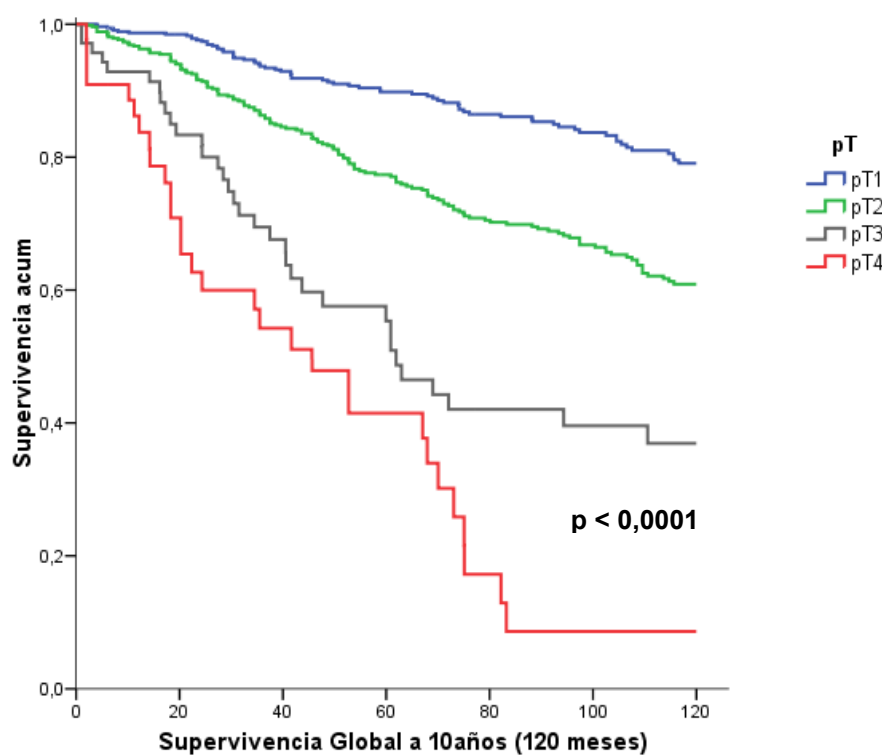


Figura 23: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función del tamaño tumoral pT.

Tamaño Tm pT	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
pT1 n= 551	108,2	105,9 – 110,9	70	12,7
pT2 n= 524	94,6	91,0 – 98,2	147	28,1
pT3 n= 70	70,3	58,9 – 81,8	34	48,6
pT4 n= 44	48,5	37,1 – 59,8	30	68,2

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCIV: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función del tamaño tumoral pT.

5.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN AFECTACIÓN GANGLIONAR.

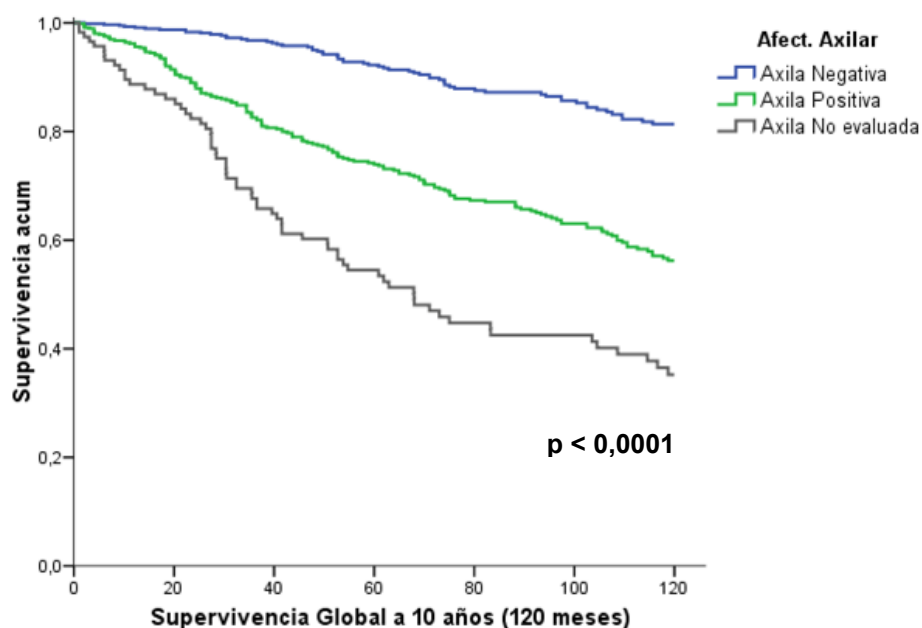


Figura 24: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función de la afectación ganglionar axilar.

AXILA	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
Negativa n= 586	110,2	107,9 – 112,6	63	10,8
Positiva n= 561	91,0	87,3 – 94,7	173	30,8
No evaluada n=116	71,1	62,8 – 79,5	67	57,8

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCV: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función de la afectación ganglionar axilar.

Cuando valoramos la supervivencia global a 10 años en función de la afectación axilar, comprobamos como existen diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,0001$), correspondiendo la menor supervivencia a los casos en los que la axila fue no evaluada (habitualmente enfermas mayores o estadios avanzados).

6.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR (pN).

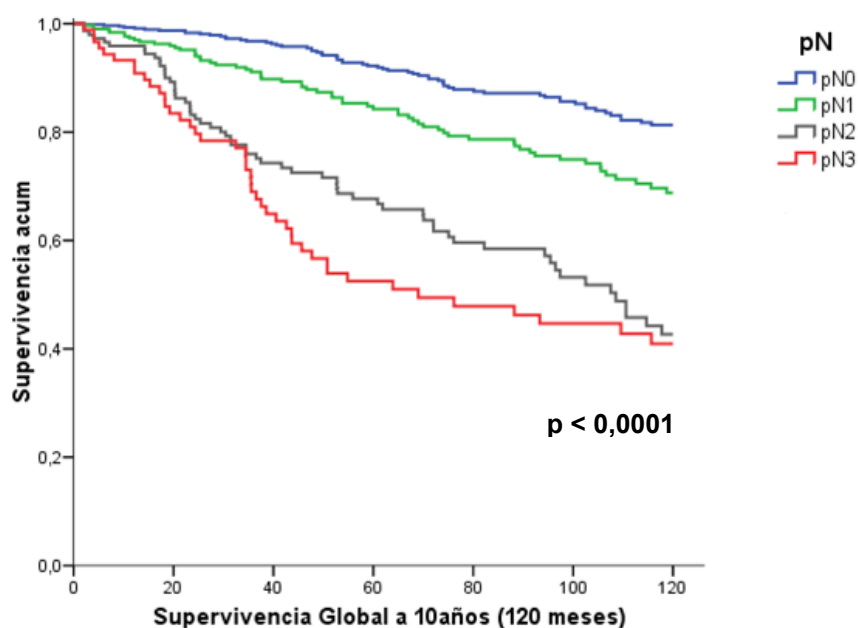


Figura 25: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función de la afectación ganglionar pN.

Afect. Nodal pN	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
pN0 n= 583	110,2	107,8 – 112,6	63	10,8
pN1 n= 308	101,6	97,4 – 105,9	62	20,1
pN2 n= 148	83,1	75,7 – 90,6	61	41,2
pN3 n= 90	73,1	63,1 – 83,1	44	48,9

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCVI: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función de la afectación nodal pN.

7.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN ESTADIO TUMORAL (pTNM).

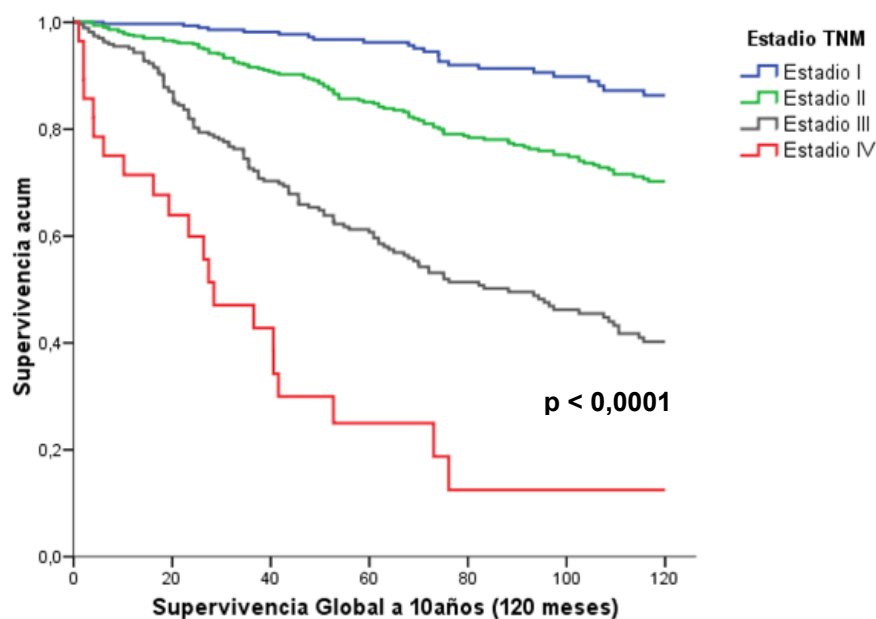


Figura 26: Curva de Supervivencia Global a 10 años en función del estadio tumoral TNM.

Estadio TNM	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
I n= 338	113,8	111,3 – 116,4	23	6,8
II n= 511	102,2	99,0 – 105,4	103	20,2
III n= 272	76,9	71,3 – 82,6	123	45,2
IV n= 28	40,6	25,6 – 55,6	21	75,0

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCVII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función del Estadio tumoral TNM.

8.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN LOS DIFERENTES SUBTIPOS MOLECULARES.

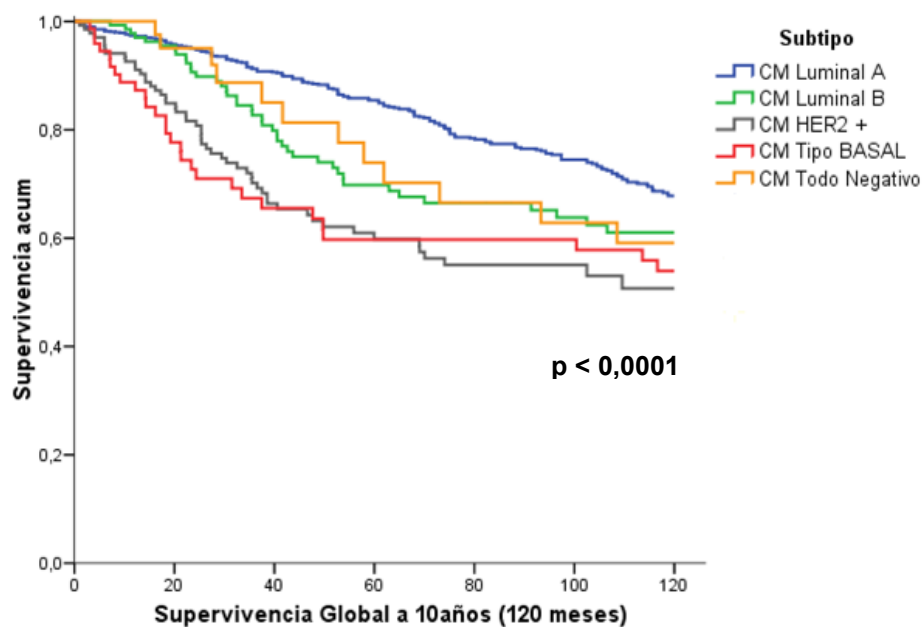


Figura 27: Curva de Supervivencia Global a 10 a. en función de los subtipos de la clasificación molecular.

Subtipos CM	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
Luminal A n= 897	101,7	99,2 – 104,2	185	20,6
Luminal B n= 148	90,7	83,3 – 98,2	41	27,7
HER 2 n= 136	79,1	70,7 – 87,6	53	39,0
Basal n= 75	79,8	67,6 – 91,9	28	37,3
Triple negativo n= 47	93,0	79,9 – 106,2	12	25,5

Log rank: $p < 0,0001$

Tabla XCVIII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses) en función de los subtipos de la clasificación molecular.

9.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL.

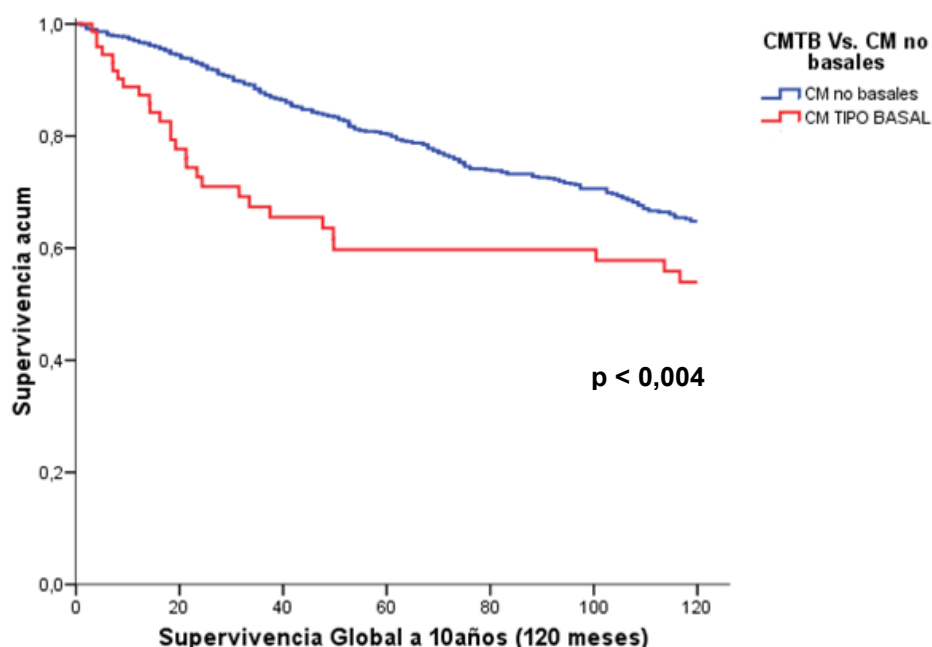


Figura 28: Curva de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales.

	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 75	79,8	67,6 – 91,9	28	37,3
CM no basales n= 1228	97,6	95,2 – 99,9	291	23,7

Log rank: $p < 0,004$

Tabla XCIX: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales.

Al analizar la supervivencia global de la serie a 10 años comparando el CM Basal con CM no basales, obtuvimos una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,004$), correspondiendo una menor supervivencia media (79,8 meses Vs. 97,6 meses) y una mayor tasa de mortalidad al CM Basal (37,3 % Vs. 23,7 %) (Figura 28, Tabla XCIX).

10.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN EDAD.

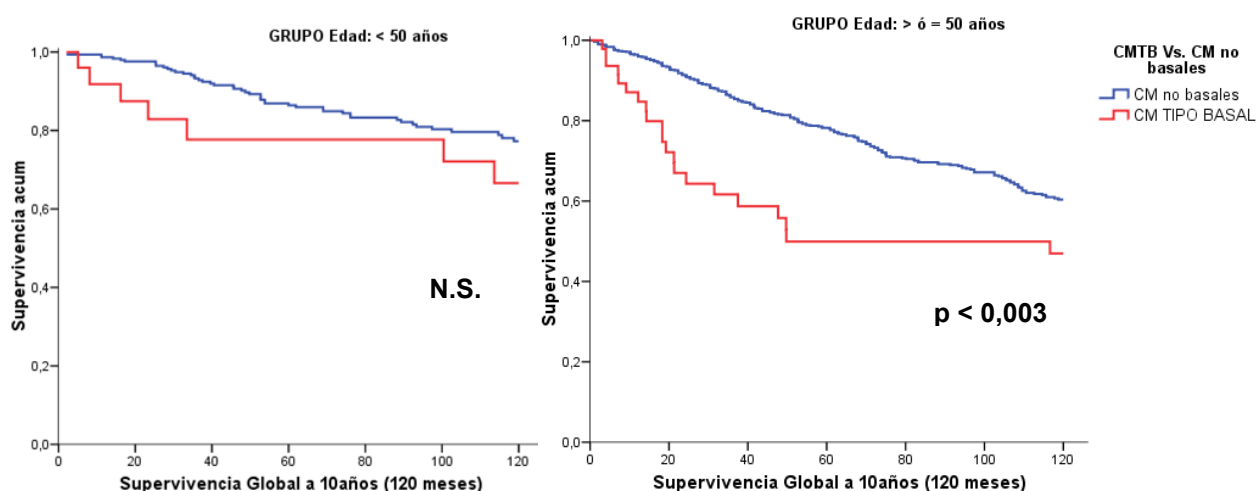


Figura 29: Curva de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales, según edad.

< 50 años	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 26	95,8	78,3 – 113,3	7	26,9
CM no basales n= 310	105,9	102,2 – 109,8	48	15,5

Log rank: N.S.

≥ 50 años	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 49	70,9	55,3 – 86,5	21	42,9
CM no basales n= 918	94,6	91,8 – 97,4	243	26,5

Log rank: p < 0,003

Tabla C: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales, según edad.

Por grupos de edad, la diferencia en la supervivencia global entre CM Basal y CM no basales, sólo es significativa en el grupo de enfermas mayores de 50 años ($p < 0,003$).

11.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN GRADO DE DIFERENCIACIÓN (SE INCLUYEN SÓLO LOS CARCINOMAS POBREMENTE DIFERENCIADOS).

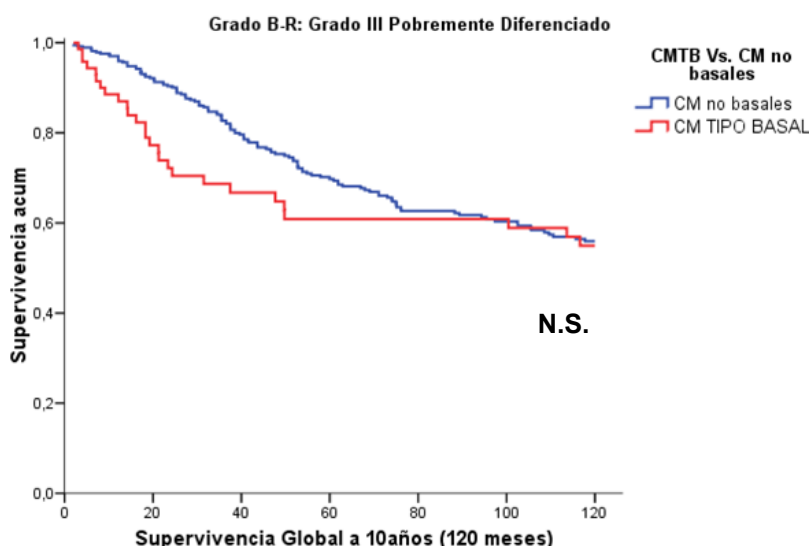


Figura 30: Curva de Supervivencia Global a 10 años: Tumores grado III, CM Basal Vs. CM no basales.

Tm. Grado III	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 73	80,7	68,4 – 92,9	27	37,0
CM no basales n= 379	88,7	95,2 – 99,9	124	32,7

Log rank: N.S.

Tabla CI: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): Tumores grado III, CM Basal Vs. CM no basales.

Como prácticamente todos los CM Basales son pobremente diferenciados (96,2 % Grado III B-R), sólo comparamos su comportamiento pronóstico en cuanto a supervivencia global con los CM no basales grado III, y a este respecto no encontramos diferencia con significación estadística ($p > 0,05$) (Figura 30, Tabla CI).

12.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN TAMAÑO TUMORAL (pT).

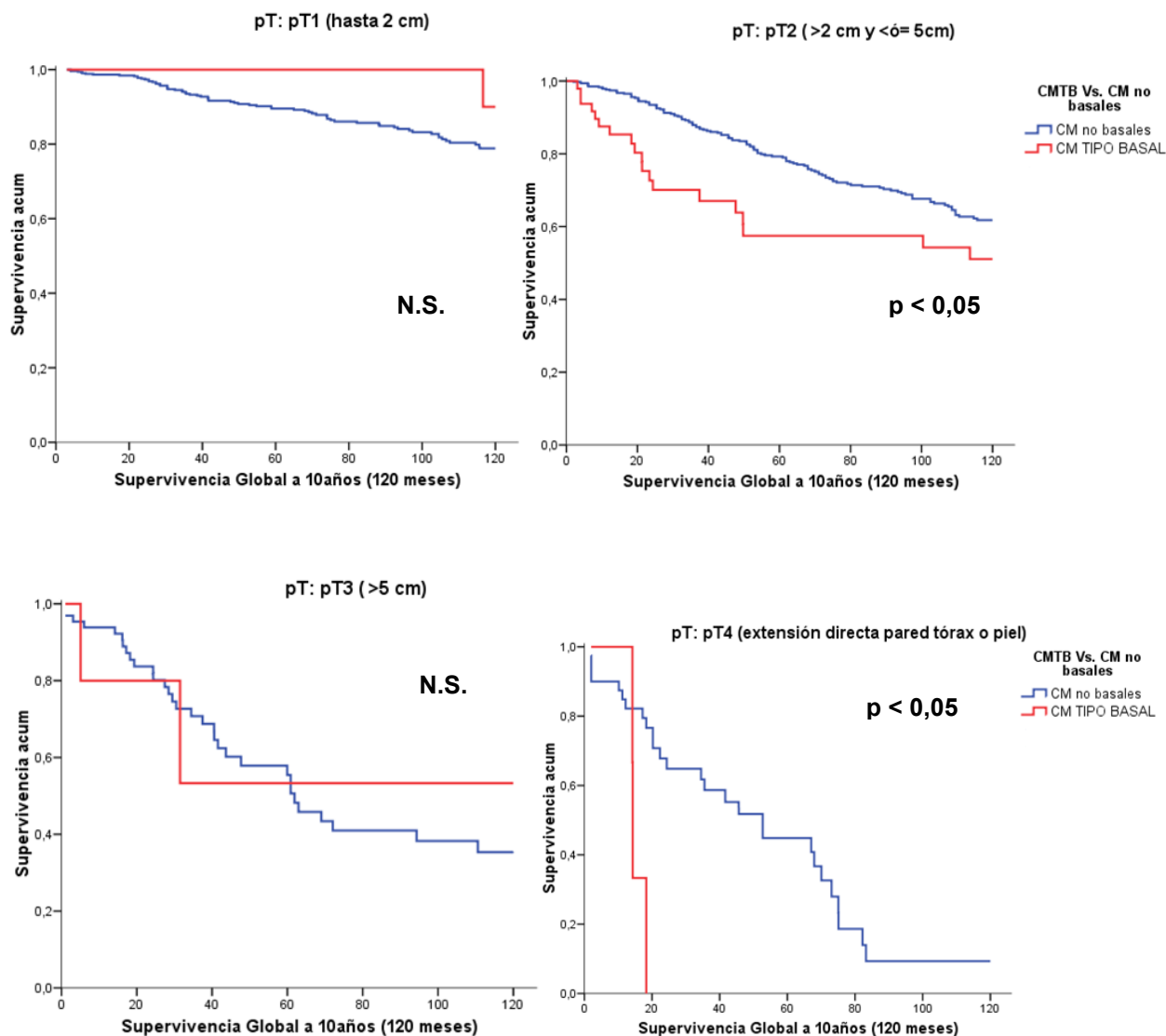


Figura 31: Curvas de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales, según tamaño tumoral pT.

Al analizar la supervivencia global entre el CM basal y los CM no basales en función de los diferentes tamaños tumorales pT, sólo encontramos diferencias significativas que confieren un peor pronóstico al CM Basal en los tumores pT2 (> 2 y ≤ 5 cm) y pT4 (extensión directa a pared torácica o piel) (Figura 31, Tabla CII).

pT1	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 13	119,6	119,0 – 120,3	1	7,7
CM no basales n= 538	107,8	105,1 – 110,6	69	12,8

Log rank: N.S.

pT2	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 49	78,2	63,2 – 93,2	19	38,8
CM no basales n= 475	96,2	92,5 – 99,8	128	26,9

Log rank: p = 0,014

pT3	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 5	73,4	25,2 – 121,6	2	40,0
CM no basales n= 65	70,0	58,2 – 81,7	32	49,2

Log rank: N.S.

pT4	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 4	15,6	12,9 – 58,2	3	75,0
CM no basales n= 40	51,1	39,2 – 62,9	27	67,5

Log rank: p = 0,019

Tabla CII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales, según tamaño tumoral pT.

13.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN AFECTACIÓN GANGLIONAR AXILAR.

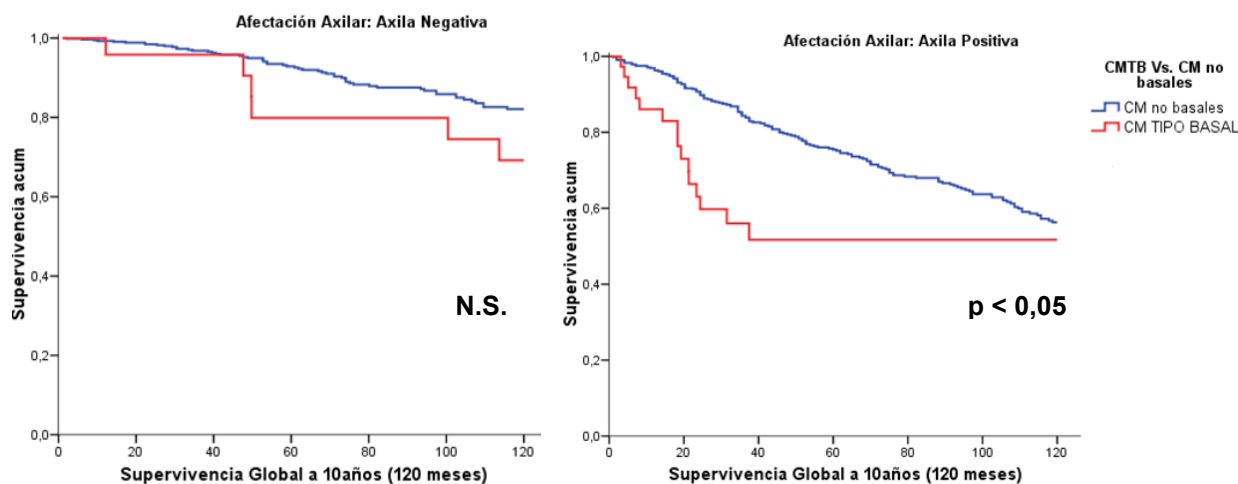


Figura 32: Curvas de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales, según afectación axilar.

Axila -	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 27	102,8	88,9 – 116,6	6	22,2
CM no basales n= 559	110,6	108,2 – 113,0	57	10,2

Log rank: N.S.

Axila +	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 37	70,9	52,6 – 89,2	15	40,5
CM no basales n= 524	92,3	88,6 – 96,1	158	30,2

Log rank: p = 0,038

Tabla CIII: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales, según afectación axilar.

14.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN AFECTACIÓN GANGLIONAR pN.

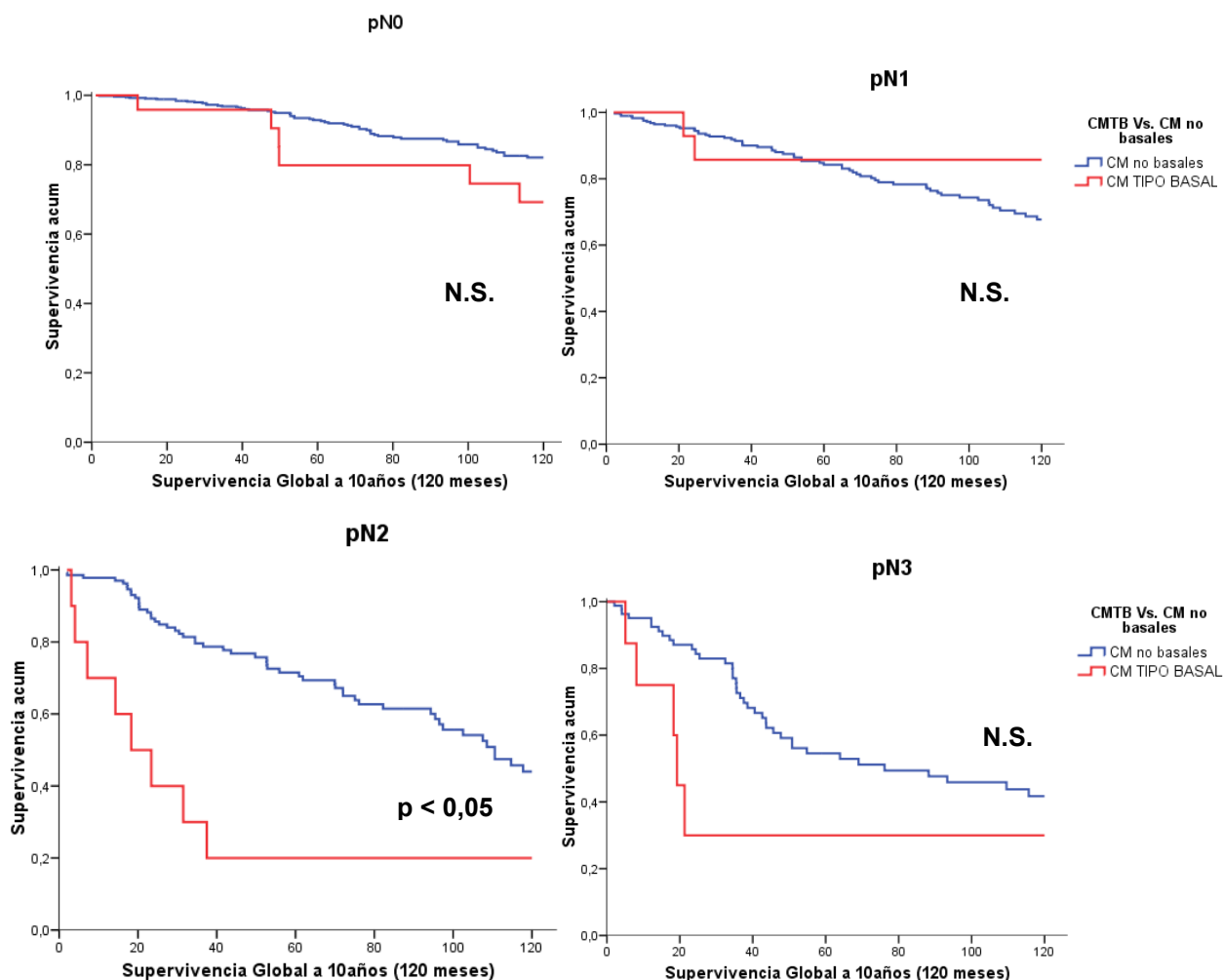


Figura 33: Curvas de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales, según afect. Nodal pN.

Cuando estudiamos la supervivencia global a 10 años de los CM Basales frente a los CM no basales, en relación con la afectación nodal pN, observamos que las mayores diferencias se hallan en los grupos pN2 y pN3, resultando sólo significativas en el primero de ellos (log rank: $p < 0,001$) (Figura 33, Tabla CIV). En este grupo la supervivencia del CM Basal fue de 37,9 meses frente al 86,6 de los CM no basales.

pN0	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 27	102,8	88,9 – 116,6	6	22,2
CM no basales n= 556	110,6	108, – 112,9	57	10,3

Log rank: N.S.

pN1	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 19	106,1	88,3 – 123,9	2	10,5
CM no basales n= 289	101,4,2	97,0 – 105,8	60	20,8

Log rank: N.S.

pN2	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 10	37,9	11,6 – 64,2	8	80,0
CM no basales n= 138	86,6	79,2 – 94,0	53	38,4

Log rank: p < 0,001

pN3	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 8	46,5	10,4 – 82,5	5	62,5
CM no basales n= 82	75,5	65,3 – 85,8	39	47,6

Log rank: N.S.

Tabla CIV: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales, según afectación nodal pN.

15.- Serie de CM femenino: SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS SEGÚN SUBTIPO MOLECULAR: CM tipo BASAL versus CM no BASAL, SEGÚN ESTADIO TUMORAL (pTNM).

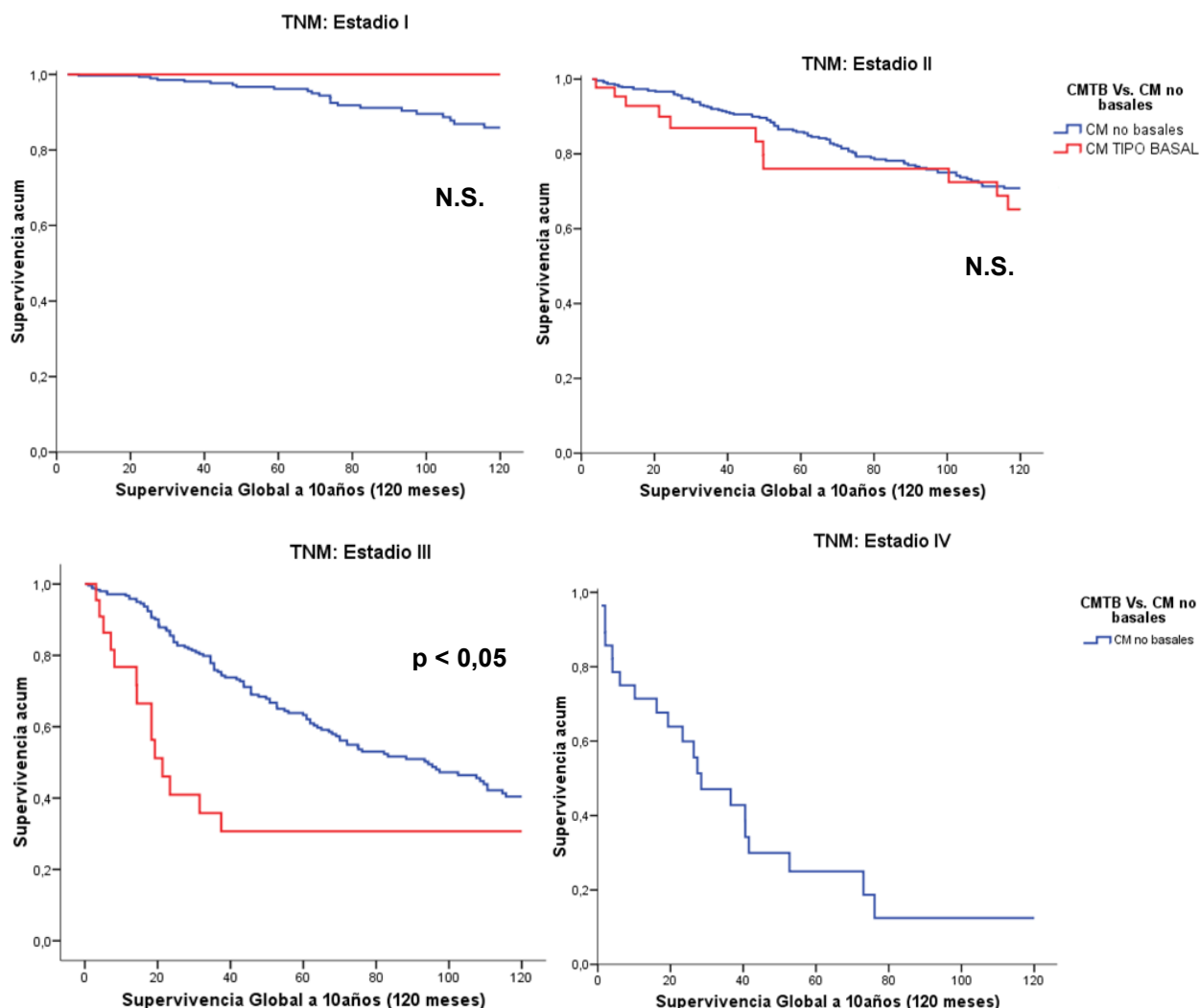


Figura 34: Curvas de Supervivencia Global a 10 años: CM Basal Vs. CM no basales, según estadio pTNM.

Entre CM Basal y CM no basales, con respecto a la clasificación por Estadios TNM, en el único grupo que encontramos diferencia significativa en cuanto a la supervivencia global a 10 años, fue en el Estadio III. Los CM Basales tuvieron una supervivencia global inferior (79,3 meses Vs.48,2 meses), así como una mayor tasa de mortalidad (63,6 % Vs. 43,6 %) (Figura 34, Tabla CV).

Estadio I	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 5	97,5	84,5 – 110,5	0	0,0
CM no basales n= 333	102,6	99,3 – 105,9	23	6,9

Log rank: N.S.

Estadio II	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 45	78,2	63,2 – 93,2	11	24,4
CM no basales n= 466	96,2	92,5 – 99,8	92	19,7

Log rank: N.S.

Estadio III	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n= 22	48,2	27,0 – 69,5	14	63,6
CM no basales n= 250	79,3	73,6 – 85,1	109	43,6

Log rank: p =0,008

Estadio IV	Media (meses)	I.C. 95%	Nº Eventos	% Mortalidad
CM Basal n=0				
CM no basales n= 28	40,6	25,6 – 55,6	21	75,0

Tabla CV: Estudio comparativo de la Supervivencia Global (meses): CM Basal Vs. CM no basales, según estadio pTNM.

16.- Serie de CM femenino: ANÁLISIS MULTIVARIANTE.

En un primer modelo de regresión de Cox encontramos como variables explicativas el tamaño tumoral, el número de ganglios y el subtipo molecular (Basal Vs, no basal).

	Coeficiente de regresión de Cox	Valor de p	Odds Ratio	Intervalo de confianza 95% para Odds Ratio	
				inferior	superior
Tamaño Tumoral (cm)	0,170	0,000	1,186	1,119	1,256
Nº ganglios axilares afectados	0,078	0,000	1,081	1,062	1,100
CM Basal versus CM no basal	0,626	0,007	1,871	1,188	2,947

Tabla CVI: Modelo de regresión de Cox (tamaño, afectación axilar y subtipo molecular).

Para el tamaño tumoral encontramos 1,186 veces más riesgo de perder un mes de vida por cada cm que aumenta el tamaño de la neoplasia. En el caso de la axila, 1,081 veces más riesgo de perder un mes de vida por cada ganglio linfático axilar afectado; y en el tipo Basal 1,871 veces más riesgo de perder un mes de vida que en el CM no basal (Tabla CVI).

Analizando de manera separada los CM Basales y los no basales, en cuanto a la supervivencia, encontramos un comportamiento diferente en función del subtipo molecular, acreditando que el pronóstico de supervivencia del CM Tipo Basal es independiente del tamaño tumoral, tal como se muestra en las tablas CVII y CVIII.

CM Basal	Coeficiente de regresión de Cox	Valor de p	Odds Ratio	Intervalo de confianza 95% para Odds Ratio	
				inferior	superior
Nº ganglios axilares afectados	0,104	0,001	1,109	1,043	1,180

Tabla CVII: Modelo de regresión de Cox para el CM Tipo Basal (tamaño y afectación axilar).

CM no basales	Coeficiente de regresión de Cox	Valor de p	Odds Ratio	Intervalo de confianza 95% para Odds Ratio	
				inferior	superior
Tamaño Tumoral (cm)	0,170	0,000	1,185	1,116	1,258
Nº ganglios axilares afectados	0,075	0,000	1,078	1,058	1,099

Tabla CVIII: Modelo de regresión de Cox para los CM no basales (tamaño y afectación axilar).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. CARACTERÍSTICAS DE LA SERIE.

Como vamos a demostrar a continuación, las características de la serie de carcinomas infiltrantes estudiados están en consonancia con lo esperado, lo que avala que nuestra muestra de 1331 CM sea representativa y adecuada para el estudio; es decir, **nuestra serie es idónea para nuestra investigación:**

- La edad media del total de los 1331 CM de nuestra serie fue de 60,08 años. Al estudiar el histograma de la distribución por edades se puede observar una curva de distribución de tipo bimodal.
- El 0,8% de los CM (11 de 1331) correspondían a CM masculinos, resultando la edad media del CM en el varón (74,8 años) sensiblemente superior a la del CM femenino (59,9 años) ($p < 0,0001$) (Tablas XV y XVI).
- Al analizar los porcentajes de los diferentes subtipos de CM según la clasificación molecular, pudimos observar en la serie total (1331 CM) que el subtipo más frecuente fue el Luminal A (69%) y el menos frecuente el triple negativo (3,6%) (Tabla XVIII).
- Ninguno de los CM masculinos (11 enfermos) pudo ser clasificado como Carcinoma de Mama de tipo Basal (90% fueron clasificados Luminal A, y un caso como Triple Negativo). Ge y cols (2009)²⁴⁸ investigando los subtipos moleculares de los CM en el varón mediante inmunohistoquímica, tampoco encontraron ningún CM de Tipo Basal en una serie de 42 carcinomas de mama masculinos: El subtipo Luminal A con un 83 % fue el más frecuente (35 de 42), seguido del subtipo Luminal B con un 17 % (7 de 42). Estos autores tampoco encontraron en su serie ningún subtipo HER2. Por ello, a partir de aquí, nosotros **decidimos excluir de nuestra investigación a todos los cánceres de mama del varón** y centrarnos a estudiar el CM de tipo basal específicamente en la serie de CM femeninos.

- El 8,5 % de los CM de nuestra serie fueron CM Bilaterales. Para McLean y cols. (1999)²⁴⁹ este porcentaje alcanzó el 13 % (374 de 2875 CM). Otros autores presentan porcentajes similares^{250,251}. Así mismo, el 52,3 % de los CM se localizaron en la mama izquierda y el 47,7 % en la mama derecha, estos porcentajes concuerdan con los descritos en la literatura médica, con un muy discreto predominio de la mama izquierda³⁴. De acuerdo con lo que esperábamos, en el Cuadrante Supero Externo, la Unión de Cuadrantes Superiores y Unión de Cuadrantes Externos se localizaron la mayoría (49,7%) de los CM de nuestra serie, éstos fueron más frecuentes en la mitad superior de la mama que en la inferior, situándose en la zona central - retroareolar - el 8,4 % de los mismos.
- En relación con la *historia obstétrica* de las enfermas de CM de las que disponíamos de su historia obstétrica con datos muy fiables (entrevista personal y revisión de historial clínico), realizamos un muestreo aleatorio simple seleccionando un total de 232 casos. Este grupo fue utilizado para analizar los diferentes subtipos moleculares de CM en relación a sus antecedentes obstétrico-ginecológicos.
- Para valorar la *agregación familiar*, dentro de la serie total de CM femenino, realizamos en las que existían datos fiables de la agregación familiar de cáncer (por entrevista personal previa y revisión de su historia clínica) un muestreo aleatorio simple, y analizamos en profundidad este grupo seleccionado. De las 334 familias estudiadas, el 37% presentaban al menos un familiar con CM. El seguimiento de familias propensas al desarrollo del CM (o a adquirir otra forma de cáncer hereditario) es un proceso dinámico que requiere una actualización constante de sus antecedentes familiares para identificar los CM con mayor carga genética-hereditaria. Cameselle¹⁷, al estudiar en nuestro área (Sur de Pontevedra) una serie consecutiva de 254 CM, observó que – en el momento del diagnóstico - el 23,6% (60 de 254) de las enfermas tenían el antecedente de al menos un familiar con CM de primer y/o segundo grado, por lo tanto podía ser clasificadas en la categoría de CM Familiar. Al comparar estos antecedentes con un grupo control pudo constatar que estos mismos antecedentes familiares de CM sólo se observaban en el 12,2% de las mujeres sanas ($p < 0,05$). Lynch²⁵² observó que el

31 % de sus enfermas eran catalogadas como CMF cuando a las familias de las probando se les hace un seguimiento en el tiempo.

- En nuestra serie en el 5,4% de las familias con CM se reconocía un patrón de CM hereditario (3 ó más casos de CM con un claro patrón vertical de transmisión) (Tabla XXIII). La identificación de los Cánceres de Mama Hereditarios varía en relación con el tiempo de seguimiento. En un trabajo previo de nuestro grupo de investigación²³⁴ estos porcentajes fueron del 5 % en el momento del diagnóstico, del 6 % a los 5 años y del 8 % al finalizar un seguimiento medio de más de doce años.
- El CM se asoció al Carcinoma Basocelular en 22 enfermas (1,7%), y en 78 casos (5,9 %) el CM se asoció a otro cáncer primario de diferente localización (se excluyen los Basaliomas y los CM Contralaterales (Tabla XXIV). En un trabajo previo de un miembro de nuestro grupo, Rosa Mallo (2009)²⁵³ observó en una serie de 3099 CM consecutivos, que con independencia de que el CM fuera o no bilateral: el 5,5 % (170 CM) fueron diagnosticadas de otra neoplasia maligna primaria además de su carcinoma de mama. Si excluíamos los carcinomas de piel (37 basocelulares y 5 epidermoides), este porcentaje se reducía al 4,45 %.
- La distribución de los grupos sanguíneos sobre un muestreo aleatorio que incluyó a 167 enfermas de la serie total de CM femenino mostró una distribución similar a la que se encuentra en la población gallega. Siendo los grupos sanguíneos O y A los más comunes y el AB el menos frecuente (Tabla XXV).
- El Sistema de Bloom-Richardson con la modificación de Nottingham es el método empleado para establecer el Grado Histológico, siguiendo este sistema observamos que el 51,3 % de los CM de nuestra serie se correspondían con carcinomas de Grado III (pobrementemente diferenciados), el 30,9 % a Grado II (moderadamente diferenciados) y el 17,8 % a carcinomas Grado I (bien diferenciados) (Tabla XXVII). Fisher y cols.²⁵⁴ obtiene los siguientes porcentajes en relación con el grado de diferenciación (66 % grado III, 23 % grado II y 11 % grado I), mientras que Elston²⁵⁵ observa una menor frecuencia de tumores pobrementemente diferenciados: 46 % grado III, 37 % grado II y 17 % grado I. Curiosamente, en los porcentajes obtenidos en nuestra serie tienen valores intermedios en relación a estos dos autores. Estas variaciones porcentuales en la

graduación histológica entre las diferentes series pueden explicarse, en parte, por diferencias reales en las diferentes poblaciones de enfermas estudiadas, pero también por la subjetividad de los investigadores²⁵⁶.

- En cuanto a la clasificación por subtipos histológicos, los resultados muestran como, con independencia de la serie analizada, el subtipo histológico más frecuente (80 %) fue el CDI NOS (Carcinoma Ductal Infiltrante, sin otra especificación), seguido del Carcinoma Lobulillar Infiltrante (4,4 % ó 7,7 %).
- El 5,3 % (70 de 1215) de los carcinomas se acompañaron de un componente intraductal extenso (CIE). En un estudio previo sobre factores pronósticos de un miembro de nuestro grupo²⁵⁷, el 13,3 % (20 de 150) de los carcinomas se acompañaron de un componente intraductal extenso. Estos carcinomas presentaron porcentajes de supervivencia discretamente inferiores; no obstante la presencia de CIE no se acompañó de diferencias significativas ($p > 0,05$) en relación con la supervivencia. La presencia de Enfermedad de Paget fue del 1,3 % (17 de 1313 CM) la cual coincide con la de otros autores^{258,259} que oscila entre el 1-3 %.
- El tamaño medio de los 1195 CM fue de 2,67 cm (DS 1,76). Al estudiar las categorías pT de la clasificación TNM (Tabla XXXIV), observamos que prácticamente la totalidad de los casos se agrupan en las categorías pT1 y pT2 (tumores menores de 5 cm.). Al estudiar la afectación ganglionar (pN) de la serie total de CM femenino, vemos que poco más de la mitad de los casos (51,2 %) está libre de la misma (Tabla XXXV). En las Tablas XXXVIII y XXXIX mostramos los Estadios TNM de la serie total, observando que 60 % de las enfermas de CM se corresponden con los Estadios I y IIA. Destacamos también que hasta un 2,4 % de las mujeres fueron diagnosticadas con enfermedad diseminada de inicio (Estadio IV).
- Se estudio la supervivencia global con un seguimiento máximo de 25 años sobre un total de 1303 enfermas de CM (figura 15). Durante este período se han registrado 447 muertes (34,3 %), habiendo sido censurados un total de 856 enfermas (65,5 %).

B. FRECUENCIA DEL CARCINOMA DE MAMA DE TIPO BASAL EN NUESTRA SERIE.

El CM se presenta como una enfermedad heterogénea, no sólo desde el punto de vista clínico e histológico, sino también en su perfil de expresión genética. La utilización de la técnica de cDNA (*complementary DesoxiriboNucleic Acid*) *microarray*, permitió correlacionar la diversidad fenotípica de los carcinomas de mama con la expresión génica y así clasificarlos, con una nueva taxonomía molecular, en cinco grupos principales³: Luminal A y B, Sobreexpresión de HER2, Tipo Basal y Triple Negativo.

El CM de Tipo Basal se caracteriza por la ausencia de receptores hormonales (RE y RPg), y de HER2 y por la expresión de marcadores característicos de las células basales/mioepiteliales.

Múltiples trabajos han examinado la proporción del subgrupo basal con respecto al total de CM, con un rango de frecuencias que oscila entre un 8-37%, según se recoge en la literatura médica^{Tablas IX y X}. En nuestra serie, al cuantificar la frecuencia de los subtipos moleculares - utilizando cuatro marcadores inmunohistoquímicos de diferenciación basal - hemos observado que el **12,4 %** (55 de 443) de los CM eran de Tipo Basal frente al 87,6 % de CM no basales (Tabla XLVIII).

Numerosos autores obtienen porcentajes muy similares (11,9-15 %) a los obtenidos en nuestra serie utilizando combinaciones de diferentes marcadores inmunohistoquímicos^{141,149,158,162,163}.

La variabilidad en la proporción de los fenotipos moleculares en los diferentes estudios probablemente se deba a las diferentes definiciones de CM de Tipo Basal utilizadas, y a los criterios de inclusión de las enfermas para cada estudio (aumentado el % de CM de Tipo Basal si se incluyen en la serie una mayor proporción de CM de alto grado, o en los estudios con CM con una mayor frecuencia de agregación familiar de cáncer de mama)¹⁶⁶.

En estudios basados en los marcadores inmunohistoquímicos, se ha demostrado que existe un porcentaje de CM Triple Negativos que no se tiñen con ningún marcador basal específico y, por tanto, deberían ser clasificados como CM Triple negativo sin diferenciación basal y no como CM de Tipo Basal.

Algunos autores han reivindicado que el grupo de CM Tipo Basal se compone casi totalmente de tumores triple negativos^{220,221,222}, y que el fenotipo triple negativo podría

ser fiable para identificar los carcinomas basales. Equiparar ambas clases de subtipos moleculares de CM puede llevarnos a conclusiones erróneas^{223,224,225}.

En nuestra serie, hasta un 5,4 % (24 de 443) de los CM fueron clasificados como CM Todo Negativo, al no poder demostrar diferenciación basal positiva con ninguno de los diferentes marcadores utilizados en nuestra investigación (CK5 y/o CK14 y/o p-Cadherina y/o EGFR).

Al evaluar de una manera aislada, en nuestra serie, los marcadores inmunohistoquímicos de diferenciación basal: la citoqueratina 5 nos permitió clasificar como CM de Tipo Basal al 9,2 % del total de CM de la serie. Este porcentaje descendió al 8,8 % al utilizar la p-Cadherina, y sólo el 3,8 % o el 3,1 % cuando sólo se utilizaban la Citoqueratina 14 o el EGFR, respectivamente.

De manera inversa, al utilizar estos marcadores de manera aislada, en algunos de los CM no podíamos demostrar diferenciación basal y teníamos que reclasificarlos como CM Todo Negativo (CM triple negativo sin diferenciación basal). Obteniendo hasta un 14,8 % de CM todo negativo si utilizábamos EGFR, un 14,3 % con la Citoqueratina 14, un 9,2 % con la p-cadherina y a un porcentaje algo menor (7,9 %) si lo que utilizábamos como marcador era la Citoqueratina 5 (Tabla XLIX).

C. ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS VARIABLES ENTRE LOS CM TIPO BASAL versus CM NO BASALES.

1.- EDAD.

En la bibliografía médica, no está claro si el CMTB afecta en mayor proporción a pacientes más jóvenes que los otros subtipos. La edad media de las pacientes con CMTB suele oscilar entre 47 y 55 años^{155,162}.

Algunos estudios realizados sobre una muestra considerable de CM encuentran una tasa significativa mayor de CMTB en pacientes más jóvenes y premenopáusicas en comparación con el resto de subtipos de CM^{136,139,142,150,155}.

En nuestra serie, la edad media (56,7 años) de los CMTB fue significativamente inferior a la edad media (60,1 años) del resto de los CM no basales ($p = 0,03$) (Tabla

XLVII). Al comparar entre grupos de edad, los CM de las mujeres menores de 50 años tenían fenotipo basal en un 15,8% frente al 11,2 % de las ≥ 50 años ($p > 0,05$).

2.- LOCALIZACIÓN, BILATERALIDAD, MULTIFOCALIDAD Y MULTICENTRICIDAD.

Existe una tendencia del CM a localizarse con mayor frecuencia en la mama izquierda. Esta tendencia se repite en la mayoría de las grandes series de CM, aunque las diferencias son mínimas e irrelevantes desde el punto de vista clínico. Algunos autores sostienen que esto se debe a una mayor cantidad de tejido glandular en la mama izquierda en relación con la derecha³⁴. En nuestra serie, en relación con la lateralidad del tumor, no observamos diferencias ($p > 0,05$) entre los CM Basales y no basales; aunque ambas series muestran un discreto predominio de la localización en la mama izquierda (Tabla LIII).

Al analizar la Bilateralidad, recordamos la afirmación de Foote y Stewart²⁶⁰: “el antecedente más frecuente de cáncer de mama es el de haber sido diagnosticada previamente de un cáncer en la mama opuesta”. En nuestra serie de 1320 CM (Tabla XX) el riesgo acumulativo de cáncer de mama bilateral de la serie total fue de 8,5 %, ligeramente superior al 5,1 % encontrado por Adami y cols.²⁶¹ en su serie de 1285 enfermas de CM. No hemos encontrado diferencias significativas ($p > 0,05$) al comparar la frecuencia de bilateralidad entre los CM de Tipo Basal (6,4%) y el resto de los CM (8,6%) (Tabla LIV).

En relación la ubicación del carcinoma dentro de la mama, si tomamos como referencia la serie de Haagensen³⁴ de 711 CM en etapa clínica A y B que registró personalmente con gran exactitud: al CSE le corresponden el 40 %, al Cuadrante Ínfero-Externo el 10,1 %, al CS Interno el 15,8% y al Cuadrante Ínfero-Interno el 7,3%. En la región central situó al 26,7% de los CM, aunque como el mismo reconoce, muchos de estos casos registrados como región central, tenían la mayor parte del tumor fuera de ésta ubicación.

En nuestra serie, en cuanto a la localización anatómica de los CM dentro de la propia glándula mamaria (Tabla XXI), el CSE fue la localización del 32 % de los tumores, pero si a esta localización le sumamos los carcinomas situados en la unión de los Cuadrantes Superiores y la unión de los Cuadrantes Externos, este porcentaje asciende

al 49,7 % de los CM totales. En el Cuadrante Ínfero Interno es donde se ubica un menor número de carcinomas en nuestra serie (4,1 %). En la literatura médica podemos observar porcentajes muy similares al los nuestros³⁴. Dentro de la propia glándula mamaria, tampoco se observaron diferencias en la ubicación del CM ($p > 0,05$) al comparar los CM de Tipo Basal frente al resto de CM.

El porcentaje de neoplasias malignas que ocupaban al menos dos o más cuadrantes de la mama fue del 8,5% en los CM basales frente al 3,5% en los CM no basales ($p > 0,05$). Esto se debió en parte, tal y como se expondrá posteriormente, al mayor volumen tumoral de los CM de Tipo Basal.

Las pequeñas diferencias observadas en relación con la multifocalidad y/o la multicentricidad tampoco alcanzaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Aunque cabe destacar que en los CM de Tipo Basal este porcentaje sólo alcanzó el 5 % frente al 15 % de los HER2 (Tabla LV).

En la mayoría de las series revisadas no consta la revisión de estos parámetros previamente descritos en relación a los distintos subtipos moleculares. Nosotros no encontramos diferencias significativas al comparar la lateralidad, bilateralidad, localización anatómica, multifocalidad o la multicentricidad entre los CM Basales y los CM no basales.

3.- HISTORIA OBSTÉTRICA.

En nuestro estudio no observamos diferencias significativas ($p > 0,05$) al comparar la edad de la menarquia, el número de gestaciones, el número partos a término o el número de abortos entre los CM tipo basal y los CM no basales (Tabla LVI).

De la bibliografía revisada, recogemos el trabajo del Polish Breast Cancer Study¹⁶² en el que si encuentran diferencias significativas entre los diferentes subtipos moleculares en relación con la edad de la menarquia: las enfermas con CMTB tuvieron una menarquia más precoz (a los 13 años) frente a los 13,7 años del resto de los CM.

Nosotros sólo hemos encontrado diferencias significativas ($p = 0,04$) en relación con aspectos de la historia obstétrica al comparar la edad de la madre en el primer parto. En nuestra serie, las enfermas con CM de Tipo Basal tuvieron una edad media de 22,9 años frente a los 25,9 años del resto de las enfermas de CM. En el trabajo referido previamente, Yang y cols.¹⁶² también encuentran diferencias significativas entre los

diferentes subtipos moleculares en relación a la edad en el primer parto: las enfermas con CMTB tuvieron una edad al primer parto de 23,7 años versus 24,6 años de los CM de Luminal A.

Clásicamente, se acepta que tener un hijo a una edad temprana ejerce un efecto protector sobre el riesgo de CM. De hecho, en un trabajo previo de un miembro de nuestro grupo¹⁷, ya habíamos podido comprobar al estudiar de una manera específica los factores de riesgo del CM como las enfermas de CM tenían una edad media en el primer parto de 27,3 años frente a los 25,6 años de media en las mujeres sanas del grupo establecido como control. En este trabajo, las diferencias alcanzaban significación cuando comparábamos el grupo de 50 a 59 años.

La glándula mamaria es el único órgano que no está completamente desarrollado al nacer y sufre cambios espectaculares en tamaño, forma y función durante el crecimiento, la pubertad, el embarazo y la lactancia. Russo y cols.^{262,263} describieron de una manera meticulosa la progresión del desarrollo de la mama humana y definieron cuatro tipos distintos de lobulillos de la mama según el grado de diferenciación que alcanza la mama en relación con la pre y postmenarquia, el embarazo y la lactancia. Estos autores, relacionan el grado de desarrollo de la glándula mamaria con la susceptibilidad a la carcinogénesis, de esta manera explican el hecho de que un embarazo temprano, al conllevar un mayor grado de diferenciación “lobulillar” de una forma precoz, le confiere a la mama una menor susceptibilidad a desarrollar CM. Basan esta teoría en evidencias epidemiológicas.

El hecho de que, en nuestra serie las enfermas con CM de Tipo Basal tengan una edad media más joven que el resto de las enfermas con otros subtipos de CM ($p < 0,05$), podría apoyar la hipótesis de una posible vía de carcinogénesis diferente para el CM de Tipo Basal, que es preciso investigar en profundidad.

4.- AGREGACIÓN FAMILIAR DE CÁNCER DE MAMA.

En nuestra investigación, pudimos estudiar en profundidad la agregación familiar de CM en 334 familias con CM. Al haber estudiado a estas familias durante un largo período de tiempo, incluso muchos años después del diagnóstico del CM primario del caso probando y, en ocasiones, pese a que la propia enferma ya hubiera fallecido, nos permitió registrar una alta incidencia de familiares con CM asociados. Hasta el 37,4 % de

las enfermas mostraban al menos un familiar de CM y en una de cada cuatro enfermas se pudo demostrar al menos un familiar en primer grado con CM (Tabla XXIII).

Al comparar la agregación familiar de CM entre las enfermas con CM de Tipo Basal frente al resto de las enfermas con otros tipos de CM no logramos alcanzar diferencias significativas ($p > 0,05$), aunque sí se observaron porcentajes superiores de agregación familiar de CM entre los CM de Tipo Basal (Tablas LVIII y LIX).

Sin embargo, cuando nos centramos en examinar sólo a aquellas familias que mostraban un árbol genealógico compatible con un CM Hereditario; es decir, con una intensa agregación de CM con un patrón de transmisión vertical, las diferencias sí alcanzaron significación estadística y fueron muy llamativas. De hecho, el 17,2 % (5 de 29) de los CM de Tipo Basal pudo ser clasificado como CM Hereditario frente a sólo el 4,3 % (13 de 305) del resto de los CM ($p = 0,003$).

Cuando analizamos este hallazgo por grupos de edad, se hizo más evidente entre las enfermas de ≥ 50 años (20 % versus 5 %), ya que su edad más avanzada permite que más familiares en primer grado (hermanas e hijas) entren en riesgo de sufrir esta enfermedad; fenómeno que es menos evidente entre las enfermas de CM < 50 años.

Curiosamente, un miembro de nuestro equipo de investigación, la Dra. Cortizo en 2001 concluía en su Tesis Doctoral²⁶⁴ que utilizando criterios clínicos y anatomopatológicos podremos predecir – en el momento del diagnóstico - los CM que tendrán una mayor carga genética: “las enfermas de CM con antecedentes de CM en algún familiar en primer grado o, independiente de éste, en un mínimo de dos familiares de segundo grado, y cuyo carcinoma sea pobremente diferenciado (grado III), receptor estrogénico negativo y HER2 negativo”. Si cumplen todos estos criterios el valor predictivo de que su CM sea un CM Hereditario es del 85%. Aunque en este trabajo no se analizaron marcadores de diferenciación basal, es obvio, que en su definición está englobando a los CM Triple Negativos y, de alguna manera, al menos dos tercios de estos casos se corresponderían probablemente con CM de Tipo Basal y el otro tercio con CM Triple negativos sin diferenciación basal²⁶⁵.

Existe una fuerte asociación entre el fenotipo basal y la mutación BRCA1¹⁹⁰. Los tumores de mama originados en estas enfermas, sobre todo las diagnosticadas antes de los 50 años, tienen unas características patológicas, expresión/alteración genómica y un perfil inmunohistoquímico muy similares a los CMTB^{191,192,193}.

Lakhani y cols.¹⁹⁴ comprobaron que en 182 pacientes con mutación BRCA1 había mayor expresión de marcadores basales que en el grupo control, y que la asociación de RE-, CK5/6+ y CK14 + comporta una alta probabilidad de tener una mutación BRCA1 (más de 35 veces superior al grupo control). Esta similitud con el CMTB, permite que este fenotipo nos pueda ayudar a identificar portadoras de mutaciones BRCA1 seleccionando pacientes para realización de test genéticos.

5.- ASOCIACIÓN DEL CM CON OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS.

No hemos encontrado ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el CM basal y no basal en relación a la asociación con otras neoplasias malignas, tanto en la serie total como en el análisis realizado por grupos de edad (menores o mayores de 50 años) (Tablas LX-LXIII).

6.- ASOCIACIÓN DEL CM CON LOS GRUPOS SANGUÍNEOS.

No hemos encontrado ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el CM basal y no basal en relación con los grupos sanguíneos de las enfermas (Tabla LXIV).

7.- GRADO DE DIFERENCIACIÓN (BLOOM-RICHARDSON), DIFERENCIACIÓN TUBULAR, PLEOMORFISMO NUCLEAR y ACTIVIDAD MITÓTICA.

Como ya hemos comentado previamente, al investigar el grado de diferenciación de Bloom-Richardson en la serie de CM femeninos, presentamos los resultados de dos maneras diferentes: Por una parte, los presentamos tal y como habían sido clasificados los CM en el contexto clínico-asistencial; y por otra, haciendo una nueva valoración por dos patólogos expertos en patología mamaria que revisaron de una manera específica una muestra de 437 tumores de la misma serie de CM.

En la serie total, el 23 % de los CM eran tumores bien diferenciados, observando el mismo porcentaje (38 %) para los CM de grado II y grado III (Tabla XXVI). Sin embargo, al estudiar la serie de 437 CM revisados de una manera específica para este trabajo, el porcentaje de tumores bien diferenciados fue del 17,8 %, moderadamente diferenciados un 30,9 %, mientras que el 51,3 % fueron clasificados como pobremente diferenciados (Tabla XXVII).

Con independencia de la serie evaluada, al comparar el grado de diferenciación entre los CM Basales y no basales, observamos siempre diferencias muy significativas ($p < 0,001$). En los CM de Tipo Basal existe un predominio casi absoluto de tumores pobremente diferenciados: más del 96 % de los CM Basales fueron grado III en ambas series frente a < 50 % del resto de los CM (Tablas LXV y LXVI).

Al analizar de manera individualizada la diferenciación tubular, el pleomorfismo nuclear o el conteo de mitosis entre el CM Basal y los CM no basales, continuamos obteniendo diferencias muy significativas ($p < 0,001$) en estos tres parámetros. Los CM Basales presentan una menor diferenciación tubular, un mayor pleomorfismo nuclear y un recuento de mitosis más alto con respecto a los CM no basales (Tablas LXVII-LXIX).

En la literatura médica, también se confirma este hallazgo de que los CMTB son generalmente tumores de alto grado histológico. Entre un 75-100% de los CMTB se trata de tumores grado 3, los cuales están significativamente sobre-representados en comparación con los otros subtipos moleculares de CM^{6,136,149,153}.

Son tumores densamente celulares, con escaso estroma intercelular, lo cual les confiere un aspecto sólido. Muestran un marcado pleomorfismo celular, ausencia de formación tubular, frecuentes células apoptóticas, nucleolos prominentes, elevada relación núcleo-citoplasma y presencia frecuente de elementos metaplásicos (como metaplasia escamosa)^{134,148,153,170}.

8.- TIPO HISTOLÓGICO.

De la misma manera que el grado de diferenciación, la clasificación por subtipos histológicos también la presentamos de dos maneras: tal y como había sido clasificada en el contexto clínico-asistencial, y una vez examinada por dos patólogos expertos en patología mamaria que revisaron de una manera específica una muestra al azar de 431 tumores de la misma serie de CM (Tabla XXIX).

Los resultados muestran como, con independencia de la serie analizada, el subtipo histológico más frecuente (80 %) fue el CDI NOS (Carcinoma Ductal Infiltrante, sin otra especificación), seguido del Carcinoma Lobulillar Infiltrante (4,4 % ó 7,7 %).

Pero dentro de los CDI NOS queremos destacar – por su importancia - que tras la revisión específica por los dos patólogos expertos hemos podido separar un pequeño grupo de tumores (44 casos) que denominamos **CDI NOS “con hileras y necrosis”** y

que representaron el 10,2 % del total de los CM. Los CM que mostraban estos rasgos morfológicos (Figuras 13, 14, 16-19) mostraban una asociación muy significativa ($p < 0,001$) con el CM de Tipo Basal: un 49,1 % (27 de 55) frente a sólo el 8,5 % (13 de 388) del resto de CM no basales.

Aunque esto no se refleja en la literatura médica de una manera tan específica, si ha sido descrita la asociación del CM de Tipo Basal con la necrosis geográfica central o tipo comedo^{6,160,170}.

En nuestra investigación, también confirmamos una asociación muy significativa ($p < 0,001$) entre el CMTB y el carcinoma metaplásico. En la bibliografía se describe una clara asociación entre el fenotipo basal y la mayoría de los carcinomas metaplásicos^{196,197} y medulares^{198,199,200}. En nuestra serie, si bien por la escasa frecuencia de carcinomas medulares, no se alcanza significación estadística ($p < 0,05$) resulta muy representativo que 3 de los 4 CM clasificados como carcinomas medulares mostraran un fenotipo basal. O dicho de otra manera, el 5,5 % de los CM de Tipo Basal (3 de 55) fueron medulares frente al 0,3 % de los CM no basales (1 de 388).

El fenotipo basal es poco frecuente en otros tipos especiales de CM tales como el Tubular, Mucinoso, Papilar o Cribiforme y Lobulillar¹⁵³. En nuestra serie, no hemos encontrado ningún CM de tipo Lobulillar, Mucinoso o Tubular entre los 55 CM de Tipo Basal analizados de una manera específica (Tabla LXXI).

9.- PRESENCIA DE COMPONENTE INTRADUCTAL EXTENSO.

Otro punto de interés y ampliamente analizado como factor de riesgo para la recidiva es la posible coexistencia de Componente Intraductal Extenso (CIE) en el CM, término que define la presencia de crecimiento intraductal en mas del 25% de la neoplasia maligna, situado en su periferia.

En la serie total de casos, sólo el 5,3 % de los CM (70 de 1315) mostraron CIE. Aunque no se alcanzaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los distintos subtipos moleculares de CM, ninguno de los CM de Tipo Basal (0 de 55) mostró CIE frente al 4,4 % (17 de 386) de la serie revisada (Tablas XXX y LXXII).

10.- PRESENCIA DE ENFERMEDAD DE PAGET DEL PEZÓN.

Tampoco encontramos diferencias al comparar la presencia de enfermedad de Paget del pezón entre los CMTB y los CM no basales.

No obstante, si analizamos la presencia enfermedad de Paget entre los diferentes subtipos moleculares del CM, sí se observó una clara asociación con el subtipo HER2 (12,5 %) frente al 2 % en los CM Luminal A, el 2,9 % en los CM Luminal B, y ningún caso entre los CM Triple negativo con o sin diferenciación basal (Tabla LXXIII).

11.- EXPRESIÓN DE Ki67.

Varios estudios han confirmado que los CMTB poseen índices de proliferación elevados y/o altas tasas de mitosis^{6,150,152,153,158,195}.

En nuestra serie, pudimos estudiar la expresión de Ki-67 en 21 CM basales y comprobamos que todas las neoplasias con fenotipo basal (100%) presentaron un índice de proliferación elevado ($\geq 20\%$) determinado por Ki67 frente a sólo el 40 % en el resto de los CM no basales ($p < 0,001$).

Los genes asociados con la proliferación celular están altamente sobreexpresados en los CMTB^{3,94}. Se ha sugerido que estos tumores pueden tener tasas de crecimiento extraordinariamente rápidas, y por ello, probablemente se encuentran en mayor proporción entre los denominados "cánceres de intervalo" (o detectados entre mamografías anuales de cribado)^{147,167}.

12.- EXPRESIÓN DE E-Cadherina.

La E-Cadherina es una glucoproteína de superficie cuya expresión está perdida en el Carcinomas Lobulillares y se encuentra presente en las células de los Carcinomas Ductales.

La expresión de E-Cadherina fue positiva en el 100 % de los CM Basales en los que se estudió, resultando significativa la comparación con los CM no basales (86,6 %) (Tabla LXXV).

13.- TAMAÑO TUMORAL.

En nuestra serie, el tamaño tumoral medio fue significativamente superior en los CM Basales (3,5 cm) frente a los CM no basales (2,6 cm), y esta diferencia se mantuvo

al comparar también el tamaño tumoral medio entre los dos grupos de edad con punto de corte a los 50 años (Tablas LXXVI y LXXVII).

También resultó estadísticamente significativa ($p < 0,001$) la comparación de los tamaños tumorales pT entre ambos grupos de CM. El 67,1 % de los CM basales fueron tumores pT2, mientras que en los no basales el mayor grupo es del pT1 (48,3 %). (Tabla LXXVIII).

En la literatura médica, se encuentran resultados dispares, con varios trabajos en los que sí asocian un mayor tamaño con el CM de Tipo Basal en relación a los CM no basales^{106,139,149,152,158}. Sin embargo, otros autores no aprecian esta asociación^{140,142,144,146,150,151,160}.

14.- AFECTACIÓN GANGLIONAR LINFÁTICA.

La asociación entre CMTB y afectación ganglionar linfática también varía entre los diferentes estudios. En nuestra serie, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en relación con la diseminación linfática ganglionar entre los CM de Tipo Basal y el resto de los CM en ninguna de las múltiples comparaciones efectuadas (Tablas LXXIX-LXXXII).

A este respecto, algunos autores no encuentran diferencias significativas al comparar con CM no basales^{136,144}, mientras que otros encuentran en los CMTB una menor probabilidad de afectación axilar^{149,160}.

15.- RELACIÓN ENTRE TAMAÑO TUMORAL Y AFECTACIÓN GANGLIONAR AXILAR.

En los CM no basales, de nuestra serie, encontramos un porcentaje de afectación axilar que crecía progresivamente con el tamaño tumoral (32,3 % en tumores < 2 cm hasta 82,1 % en tumores de > de 5 cm). En contraposición, en los CM Basales un mayor volumen tumoral no siempre se asoció a una mayor afectación axilar (Tabla LXXXIII).

Nuestros resultados coinciden con los hallazgos presentados por Foulkes y cols.¹³⁹, quiénes observaron que en los CM de Tipo Basal (CK5/6+) existía una débil correlación entre el tamaño tumoral y el número de ganglios linfáticos positivos, al contrario de lo observado en el resto de los CM no basales.

Otros autores, estudiando una serie de CM Triple Negativos, sin especificar la diferenciación basal, obtienen resultados contradictorios. Así, Dent y cols.²²¹ no encuentran relación entre tamaño tumoral y afectación axilar; mientras que Thike y cols.²⁶⁶ sí observan esta relación.

16.- Agrupación por Estadios (AJCC 2003).

Estudios previos sobre los CM Tipo Basal (definidos por triple negatividad y positividad de CK 5/6 o EGFR) no han demostrado diferencias significativas frente a los otros CM en referencia al estadio en el momento del diagnóstico¹⁵⁵.

En nuestra serie, comparando con la serie total de CM no basales, encontramos un mayor porcentaje de enfermas con Estadios II (60,8 %) y III (32,5 %) y menor de Estadios I: 6,8 % entre los CM Basales frente al 43 %, 23,4 % y 30,9 % , respectivamente, entre los CM no basales ($p < 0,001$) (Tablas LXXXIV y LXXXV).

Kurebayashi y cols.¹⁶¹, encontraron una mayor proporción de estadios III en los CM Tipo Basal (RE-, RP-, HER2-, CK5/6 + y/o EGFR +), lo cual los diferenció significativamente al compararlos con los otros CM no basales. Al igual que en nuestra serie, tampoco encuentran diferencias en cuanto a la afectación linfática ganglionar, por lo que las diferencias encontradas en la estadificación TNM se atribuyen principalmente al mayor tamaño tumoral (pT) de los CM Basales.

17.- Recidiva local.

Cuando estudiamos la aparición de recidiva local no encontramos diferencias significativas entre CM Basal y CM no basales (Tabla LXXXVI). Tampoco demostramos diferencias significativas entre los diferentes subtipos de la clasificación molecular, donde el subtipo que se asoció a menor frecuencia de recaída local fue el Luminal A (3,6 %) y el que tuvo la mayor frecuencia fue el HER2 (6,6 %) (Tabla LXXXVII).

A pesar de su mayor agresividad histológica y, como hablaremos posteriormente, del mal pronóstico del CM Tipo Basal, no hay evidencia de que estas enfermas tengan un mayor riesgo de recurrencia local tras cirugía conservadora y radioterapia^{179,180}. Esto implica que son candidatas adecuadas, si existe indicación, para un tratamiento conservador de inicio o tras neoadyuvancia^{156,181}.

Sin embargo, en nuestra serie, cuando estudiamos la presencia de recidiva local en las enfermas CM que presentan un patrón compatible con CM Hereditario, la recidiva local fue significativamente superior ($p < 0,05$) en los CM Basales con respecto a los CM no basales (40 % Vs. 7,7 %) (Tabla LXXXVIII).

Pierce y cols.¹⁸⁷ compararon los resultados después de tratamiento conservador de 160 enfermas portadoras de mutaciones BRCA1 o BRCA2 con CM con los de 445 controles con CM esporádico. La tasa de CM contralateral 15 años después del tratamiento conservador fue de 39 % en las portadoras de mutaciones BRCA y de 15 % en las controles ($p < 0,001$). Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a la recidiva local, el análisis multivariante mostró una tasa de recurrencia local significativamente superior entre las portadoras de mutaciones BRCA cuando de este grupo se excluían para el análisis a las pacientes a las que se les había realizado una ooforectomía.

Por ello, Fatouros y cols.¹⁸⁶ opinan que el tratamiento conservador podría resultar una opción subóptima en las pacientes con susceptibilidad familiar para CM. En las pacientes con patrón hereditario demostrado (mutaciones BRCA), el mayor riesgo de recurrencia local tras un tratamiento conservador, y de CM contralateral, nos deben hacer considerar la reducción de riesgo (mastectomía terapéutica y profiláctica) en su manejo quirúrgico^{186,187,188}.

18.- Patrón de metastatización.

En varios trabajos publicados sobre los CM de Tipo Basal, se reconoce que presentan un patrón específico de metastatización, mostrando una gran propensión a desarrollar metástasis viscerales (asociadas a un peor pronóstico)^{173,174}, y menor predilección por metastatizar en hueso o hígado^{151,152,160,175}. Por otra parte, el fenotipo basal no sólo implica un mayor riesgo de recaída, sino que además se asocia a un curso evolutivo más agresivo tras la diseminación metastásica^{100,148}.

En nuestro estudio, de las enfermas que presentaron diseminación a distancia en su curso evolutivo, en las que pudimos valorar con exactitud su patrón de metastatización (8 CM Tipo Basal y 106 CM no basales), hemos comprobado como el CM Basal presenta una mayor tendencia a desarrollar metástasis viscerales, comparado con

los CM no basales y con el resto de subtipos moleculares, lo cual concuerda con lo reflejado en la literatura médica^{173,174}.

Nuestra serie de CM de Tipo Basal con el patrón de metastatización conocido con exactitud todavía es pequeña para sacar conclusiones definitivas, pero llama la atención que sólo el 50 % presentaron metástasis óseas frente al 70 % de los CM no basales. El CM Basal también presentó una frecuencia inferior para desarrollar metástasis óseas, al compararlo con cada uno de los otros subtipos moleculares del resto de CM no basales. Las metástasis óseas se desarrollaron preferentemente en los subtipos Luminales.

Al revisar la bibliografía médica, observamos que a nivel del SNC, la mayoría de cánceres de mama que desarrollan metástasis tienen receptores hormonales negativos y expresan un fenotipo basal o HER2^{176,177,267}. Sin embargo, en nuestra serie, al estudiar la presencia de metástasis cerebrales observamos que ninguna de las enfermas con CM de Tipo Basal presentó metástasis en el SNC, mientras que un 9,4 % (10 de 106) de las enfermas con CM no basal presentaron metástasis cerebrales. De este último grupo destacamos que la frecuencia más alta correspondió al subtipo HER2 con un 23,1 % (3 de 13 CM). En ninguno de estos estudios comparativos hallamos diferencias significativas, posiblemente debido al escaso número de CM de Tipo Basal (Tablas LXXXIX y XC). Posiblemente en estudios posteriores en los que podamos incluir un número mayor de casos de CM de Tipo Basal con un patrón de metastatización conocido, podamos desvelar si estas diferencias alcanzan o no significación estadística.

D. ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA.

1.- SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS DE LA SERIE TOTAL Y SU RELACIÓN CON VARIABLES CON SIGNIFICADO PRONÓSTICO.

Para conocer el impacto de los diferentes factores pronósticos en nuestra serie, hemos realizado un estudio de supervivencia global a 10 años. Cuando evaluamos la edad (Figura 21, Tabla XCII), al separar los casos atendiendo a un punto de corte de 50 años, el grupo menor de 50 años (en el que, obviamente, se concentran la mayoría de las enfermas premenopáusicas), presentan una media de supervivencia mayor que en el grupo de mayores de 50 años (105,2 meses Vs. 93,5 meses) ($p < 0,0001$). De entrada, esto resulta obvio, dada la mayor esperanza de vida global de las mujeres de menor edad comparadas con las mujeres mayores.

No obstante, la edad se considera como un factor pronóstico, aunque controvertido en cuanto a su significación independiente. Se ha visto que en mujeres jóvenes, menores de 40 años, los tumores son de mayor agresividad, con perfiles de diferenciación e inmunohistoquímicos que favorecen el aumento de recaídas y una menor supervivencia²⁶⁸. Fowble y cols.²⁶⁹ observaron que este efecto adverso de la juventud se limitaba a pacientes sin afectación ganglionar linfática.

Dentro de lo previsto, el grado de diferenciación, el tamaño tumoral (pT), la afectación ganglionar axilar, la afectación ganglionar pN y la estadificación pTNM, demostraron su influencia significativa en el análisis univariante sobre la supervivencia global a 10 años de las enfermas estudiadas en la serie (páginas 131 – 135), en concordancia con lo esperado en la bibliografía médica. Lo que de alguna manera, nos viene a avalar la serie como idónea para nuestra investigación.

2.- SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS EN LOS DIFERENTES SUBTIPOS MOLECULARES.

En el año 2001, Sorlie y cols.⁹⁴ publicaron el primer estudio donde se demostraron diferencias significativas en cuanto a supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad, entre los distintos subtipos moleculares de CM clasificados mediante perfiles de expresión génica. Los subtipos HER2 y Basal se asociaron a supervivencias

más cortas, Luminal A fue el grupo de pronóstico más favorable y Luminal B tuvo un pronóstico intermedio (Figura 6).

En el Carolina Breast Cancer Study, Carey y cols.¹⁵⁵, clasificando los subtipos moleculares en base a patrones inmunohistoquímicos, describen que las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de los subtipos HER2 y basal tienen una pendiente pronunciada, que parece estabilizarse en el CM de Tipo Basal después de los 5 años. Esto refleja un patrón de recurrencias diferente para los CMTB, en los que la mayoría de las recaídas tienden a producirse precozmente en los cinco primeros años de seguimiento.

En la página 136 (Figura 27, Tabla XCVIII), podemos observar la curva de supervivencia y las correspondientes medias (en meses) de supervivencia global a 10 años de las enfermas de la serie, catalogadas en función de sus marcadores inmunohistoquímicos en los diferentes subtipos de la clasificación molecular.

Nuestros resultados se superponen a éstos¹⁵⁵: los CM Tipo Basal y HER2 tuvieron también las medias de supervivencia más cortas (79,8 y 79,1 meses respectivamente) y las tasas de mayor mortalidad a 10 años (37,3 % y 39 %). En un futuro próximo, será interesante investigar si el mal pronóstico que ahora mismo comparten los subtipos: CM HER2 y CM Tipo Basal, se ve modificado cuando se incluyan en estas investigaciones a un número mayor de enfermas con subtipo HER2 que hayan recibido tratamiento con trastuzumab (aprobado para tratamiento adyuvante desde el año 2006)¹⁷⁸.

Los CM triple negativos sin diferenciación basal, tuvieron un pronóstico intermedio (93 meses de supervivencia media y tasa de mortalidad de 25,5 %) entre los subtipos Luminal A (los de mejor pronóstico: 101,7 meses de supervivencia y 20,6 % de tasa de mortalidad), y los de peor pronóstico (HER-2 y Subtipo Basal). El subtipo Luminal B también presentó un pronóstico intermedio ligeramente superior a los CM triple negativos sin diferenciación basal.

Obviamente, nosotros si encontramos diferencias significativas entre los CM de Tipo Basal y los CM Triple Negativo sin diferenciación basal. En consonancia con nuestros hallazgos, Liu et al.²³¹ encontraron un 58% de tumores Triple Negativos sin expresión de ningún marcador basal (CK 5/6, CK 14 y/o EGFR) y concluyeron que este subtipo "todo negativo" era clínica y biológicamente diferente (mejor pronóstico) que los Triple Negativos que expresaban marcadores basales (CM de Tipo Basal). Por lo tanto, la

expresión de marcadores basales le confiere un peor pronóstico al CM Tipo Basal con respecto a los CM triple negativos sin diferenciación basal^{227,228}.

3.- SUPERVIVENCIA GLOBAL A 10 AÑOS: CM tipo BASAL versus CM no BASAL.

El CM de tipo Basal presenta una supervivencia global media menor que los CM no basales (79,8 meses Vs. 97,6 meses) ($p < 0,004$), y una mayor tasa de mortalidad (37,3 %) en los CM de Tipo Basal frente al 23,7 % en el resto de los CM no basales (Figura 28, Tabla XCIX).

La mayoría de estudios le confieren al CM de Tipo Basal un pronóstico adverso, y tan sólo una pequeña proporción de trabajos encuentran un pronóstico similar o mejor que el resto de subtipos de CM^{145,149,160}. Las mayores discrepancias en cuanto al pronóstico parecen debidas, en su mayor parte, a las diferentes definiciones inmunohistoquímicas de CMTB que existen en los estudios. Algunos autores resaltan que el CM de Tipo Basal predice la reducción en la supervivencia específica de cáncer sobre todo en los 3-5 años siguientes al diagnóstico^{148,155}.

En la literatura médica, múltiples publicaciones confirmaron el mal pronóstico del subtipo basal basándose únicamente en la IHQ como método de identificación del CMTB^{138,141,153,154,155}. En la mayoría de estos trabajos, al igual de lo que sucede en nuestra serie, se observa una relación entre los tumores basales y otros factores de pronóstico desfavorables como un mayor tamaño tumoral, alto grado histológico y nuclear, elevado índice mitótico o mayor frecuencia de mutaciones de p53. En algunos de los trabajos en donde se realizó el análisis multivariante, se demuestra que la expresión de CK 5/6 confiere un pronóstico adverso independientemente de los factores pronósticos mencionados previamente^{138,153}.

Cuando estudiamos la supervivencia global en función de los *grupos de edad* previamente descritos (Figura 29, Tabla C), observamos que los CM Tipo Basal presentaron medias de supervivencia inferiores y tasas de mortalidad superiores con respecto a los CM no basales, aunque estas diferencias sólo alcanzaban significación estadística dentro del grupo de enfermas mayores de 50 años ($p < 0,003$).

Con respecto al *grado de diferenciación*, como prácticamente todos los CM Basales son pobremente diferenciados (96,2 % Grado III B-R), sólo comparamos su comportamiento pronóstico en cuanto a supervivencia global con los CM no basales

grado III. Como se puede apreciar en la página 139 (Figura 30, Tabla CI), la media de supervivencia es inferior para el CM Tipo Basal (80,7 meses Vs. 88,7 meses), y la pendiente de la curva es más pronunciada en los primeros 24 meses, pero las diferencias no tienen significación estadística ($p > 0,05$). Fulford y cols.¹⁶⁰ en un estudio sobre un grupo de 443 Carcinomas Ductales Infiltrantes grado III, clasificando los CM Tipo Basal en cuanto a la positividad para la CK 14 (88 tumores – 20 %), encuentra una mejor supervivencia global para el grupo de CM Tipo Basal frente al resto de CM no basales. Al estudiar sólo tumores grado III, las diferencias encontradas en los resultados en cuanto a la supervivencia global entre CM Tipo Basal y CM no basales, podrían estar en relación al porcentaje de tumores HER2 presentes en este último grupo, que como hemos comentado previamente poseen un pronóstico igual o peor que los CM Tipo Basal.

Al analizar la *influencia del tamaño tumoral* (estadificación pT), sobre la supervivencia global, encontramos diferencias significativas ($p < 0,05$) en los que claramente los CMTB se asocian a unos menores intervalos de supervivencia media y unas mayores tasas de mortalidad en los tumores pT2 (> 2 cm y ≤ 5 cm) (Figura 31, Tabla CII). Cabe destacar que en el grupo pT2 existe un número considerable de enfermas (49 de 71: 69 %), y que puede hacer que estas diferencias sean consistentes.

Cuando estudiamos la supervivencia global a 10 años de los CM Basales frente a los CM no basales, los CM Tipo Basal se asociaron a una menor supervivencia y mayores tasas de mortalidad en ambos grupos (axila negativa y axila positiva) (Figura 32, Tabla CIII). La diferencia sólo resultó significativa ($p = 0,038$) en las enfermas con afectación ganglionar axilar. En los trabajos revisados, algunos autores, al igual que nosotros, también encuentran diferencias en la supervivencia entre subtipos moleculares sólo en el grupo con afectación ganglionar^{141,161}, mientras que otros obtienen diferencias significativas en ambos grupos¹⁵⁵.

En el análisis de la supervivencia global, en la *regresión de Cox* para los CM (Tablas CVI-CVIII) encontramos como variables explicativas el tamaño tumoral, el número de ganglios y el subtipo molecular (Basal Vs. no basal). El subtipo molecular aporta una mayor capacidad predictiva unido a los factores clásicos del tamaño y la afectación ganglionar. Es decir, que en nuestro estudio, el comportamiento de este subtipo estudiado (CM de Tipo Basal) resultó diferente al resto de CM (no basales) y su supervivencia parece desligarse del tamaño.

Rakha y cols.¹⁵⁴ en un estudio en el cual incluía en el panel multivariante una lista de variables pronósticas clásicas (grado histológico, estatus de afectación ganglionar, tamaño tumoral, estatus menopáusico, edad de la paciente, RE y HER2, y tratamiento adyuvante), encontraron una asociación significativa e independiente entre el fenotipo basal y las supervivencias global y libre de enfermedad más cortas, pero sólo en el grupo sin afectación ganglionar. En el subgrupo con afectación nodal, el fenotipo basal no era independiente del estatus RE o menopáusico en la predicción de la supervivencia. Hallazgos similares fueron confirmados por van de Rijn y cols¹³⁷.

Al analizar la supervivencia global a 10 años de los CM Basales frente a los CM no basales, en relación con la *afectación nodal pN*, observamos que las mayores diferencias se hallan en los grupos pN2 y pN3, resultando sólo significativas en el primero de ellos (log rank: $p < 0,001$) (Figura 33, Tabla CIV). En este grupo la supervivencia del CM Basal fue de 37,9 meses frente al 86,6 de los CM no basales. De todas maneras, estos resultados debemos de interpretarlos con cautela debido al escaso número de pacientes incluidos en cada grupo para realizar el estudio comparativo.

Al estudiar los CM Basal frente a los CM no basales, en relación al Estadio pTNM observamos que los CM Tipo Basal con Estadios II y III presentaban un peor pronóstico; sin embargo, sólo en el Estadio III mostró diferencias significativas en cuanto a la supervivencia global a 10 años. Los CM de Tipo Basal tuvieron una supervivencia global inferior (48,2 meses) frente a los 79,3 meses de los CM no basales (Figura 34, Tabla CV).

CONCLUSIONES

PRIMERA.- Al analizar la frecuencia de los subtipos moleculares, utilizando cuatro marcadores inmunohistoquímicos de diferenciación basal (CK5, CK14, p-Cadherina y EGFR) pudimos clasificar como CM de Tipo Basal al 12,4 % de los CM. La Citoqueratina 5 fue el marcador que nos permitió clasificar un mayor porcentaje de CM de Tipo Basal: el 9,2 % del total de CM de la serie. Este porcentaje descendía al 8,8 % al utilizar sólo la p-Cadherina, y todavía era menor (3,8 % ó 3,1 %) cuando eran utilizados la Citoqueratina 14 o el EGFR, respectivamente.

SEGUNDA.- En nuestra serie, la edad media de las enfermas con CMTB fue significativamente inferior a la edad media del resto de enfermas con CM no basales. En el análisis de los factores de riesgo, cuando comparamos la edad de la madre en el primer parto, las enfermas con CM de Tipo Basal tenían una edad media inferior con respecto al resto de las enfermas de CM. Aunque no nos permite sacar ningún tipo de conclusión definitiva, estos hallazgos pueden apoyar parcialmente la hipótesis de una vía de carcinogénesis diferente para el CM de Tipo Basal.

TERCERA.- En los CM de Tipo Basal se encontró significativamente una mayor proporción de CM Hereditarios (con patrón de transmisión vertical) que en los CM no basales. Dentro de los CM Tipo Basal con patrón compatible con CM Hereditario, la tasa de recidiva local fue significativamente superior con respecto a los CM no basales Hereditarios.

CUARTA.- Desde un punto de vista morfológico, en los CM de Tipo Basal existe un predominio casi absoluto de tumores pobremente diferenciados: Los CM de Tipo Basal presentan una menor diferenciación tubular, un mayor pleomorfismo nuclear y un recuento de mitosis más elevado con respecto a los CM no basales. Todos los CM Tipo Basal presentaron un índice de proliferación celular (Ki 67) elevado.

QUINTA.- En relación con el tipo histológico, hemos podido separar un pequeño grupo de tumores que hemos denominado **CDI NOS "con hileras y necrosis"**. Los CM que mostraban estos rasgos morfológicos mostraron una asociación muy significativa con el CM de Tipo Basal. También confirmamos una asociación significativa entre el CM de Tipo Basal y el carcinoma metaplásico.

SEXTA.- El tamaño tumoral medio fue significativamente superior en los CM de Tipo Basal frente a los CM no basales. En los CM Basales un mayor volumen tumoral no siempre se asoció a una mayor tasa de afectación axilar.

SEPTIMA.- El CM de Tipo Basal presenta una supervivencia global media menor y una mayor tasa de mortalidad que los CM no basales. En la regresión de Cox para los CM encontramos como variables pronósticas explicativas el tamaño tumoral, el número de ganglios y el subtipo molecular (Basal Vs. no basal). El subtipo molecular aporta una mayor capacidad predictiva unido a los factores clásicos del tamaño y la afectación ganglionar. Además, concluimos que el comportamiento de este subtipo estudiado (CM de Tipo Basal) resulta diferente al resto de CM (No Basales) y su supervivencia parece desligarse del tamaño.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- ¹ Tavassoli FA, Devilee P, eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press, Lyon 2003.
- ² Vieira DSC, Dufloth RM, Schmitt FC, Zeferino LC. Carcinoma de mama: novos conceitos na classificação. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2008; 30: 42-47.
- ³ Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey S, Rees C, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-752.
- ⁴ Silva F, Carvalho S, Milanezi F, Schmitt FC. Carcinoma da mama de tipo basal. *Acta Med Port* 2008; 21: 373-378.
- ⁵ Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, et al. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* 2005; 447: 688-694.
- ⁶ Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006; 19: 264-271.
- ⁷ Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-Like Breast Cancer Defined by Five Biomarkers Has Superior Prognostic Value than Triple-Negative Phenotype. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1368-1376.
- ⁸ Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 143-148.
- ⁹ Siziopikou KP, Cobleigh M. The basal subtype of breast carcinomas may represent the group of breast tumors that could benefit from EGFR-targeted therapies. *Breast* 2007;16: 104-107.
- ¹⁰ Pollán M, García-Mendizabal MJ, Pérez-Gómez B, Aragonés N, Lope V, Pastor R, Ramis R, Fernández P, García-Pérez J, Vidal E, Boldo E, Pérdomo S, López-Abente G. Situación epidemiológica del Cáncer de Mama en España. *Psicooncología* 2007; 4: 231-248.
- ¹¹ Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007; 18: 581-592.
- ¹² Programa galego de detección precoz do cancro de mama (PGDPCM). Resultados 1992-2007. Xunta de Galicia.
- ¹³ Pollán M, Ramis R, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Gómez D, Lope V, García-Pérez J, Carrasco JM, García-Mendizabal MJ, López-Abente G. Municipal distribution of breast cancer mortality among women in Spain. *BMC Cancer* 2007, 7: 78.
- ¹⁴ Benson JR, Jatoi I, Keisch M, Esteva FJ, Makris A, Jordan VC. Early Breast Cancer. *Lancet* 2009; 373: 1463-79.
- ¹⁵ Mc Pherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of Breast Diseases: Breast cancer—epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000; 321: 624-628.
- ¹⁶ Ramos-Boyer M. Cáncer de mama: epidemiología, factores de riesgo y presentación clínica. En: Sierra A, Piñero A, Illana J, eds. Cirugía de la Mama. Guía Clínica de la Asociación Española de Cirujanos. Arán. Madrid, 2006.

-
- ¹⁷ Cameselle-Teijeiro JF. Epidemiología y factores de riesgo del cáncer de mama en el sur de Galicia. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela, 1989.
- ¹⁸ Schnitt SJ, Guidi AJ. Pathology of invasive breast cancer. En: Harris JR, et al, eds. Diseases of the breast 3rd ed. Lippincott W&W. Philadelphia 2004.
- ¹⁹ Chen CL, Weiss NS, Newcomb P, et al. Hormone replacement therapy in relation to breast cancer. *JAMA* 2002; 287: 734-741.
- ²⁰ Shousha S. Medullary carcinoma of the breast and BRCA1 mutation. *Histopathology* 2000; 37:182-185.
- ²¹ Weigelt B, Kreike B, Reis-Filho JS. Metaplastic breast carcinomas are basal-like breast cancers: a genomic profiling analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117: 273-280.
- ²² Tresserra F, Martínez MA. Factores pronósticos en el cáncer de mama: parte I. Factores morfológicos. *Rev Senología Patol Mam* 2008; 21: PP. 170-174.
- ²³ Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957; 11: 359-377.
- ²⁴ Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer: I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19:403-410.
- ²⁵ Fraile M, Solá M, Vidal S, et al. Revisión sistemática de la literatura científica sobre la técnica de la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama. *Rev Senología Patol Mam* 2003; 16: 16-30.
- ²⁶ Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2002.
- ²⁷ Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3628-3636.
- ²⁸ Singletary SE, Connolly JL. Breast Cancer Staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 37-47.
- ²⁹ Steintal CF. Zur Dauerheilung des Brustkrebses, Beitr z klin Chir. 1905; 47:226.
- ³⁰ Lee BJ, Stubenbord JG, Clinical index of malignancy for carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1928; 47:812.
- ³¹ Patterson R. The treatment of malignant disease by radium and X-rays. London, Edward Arnold, 1948.
- ³² Yeatman TJ, Bland KI. Estadificación del cáncer de mama. En: Bland KI, Copeland EM. La Mama. Manejo multidisciplinario de las enfermedades benignas y malignas. 2^a edición. Editorial Médica Panamericana 2000. p 407- 424.
- ³³ Portmann UV. Clinical and pathologic criteria as a basis for classifying cases of primary cancer of the breast. *Cleveland Clin Quart.* 1943; 10:43.
- ³⁴ Haagensen CD. Clasificación clínica de la etapa de avance del carcinoma mamario. En: Enfermedades de la mama. 3^a edición. Editorial Médica Panamericana 1987. p.892-905.
- ³⁵ Haagensen CD, Stout AP. Carcinoma of the breast: Criteria for operability. *Ann Surg* 1943; 118:859-870.
- ³⁶ Smithers DW, Rigby-Jones P, Galton DAG, Payne PM. Cancer of the breast. *Br J Radiol (Suppl.)* 1952; 4:45.

-
- ³⁷ Denoix PF. Bull Inst Nat Hyg (Paris) 1944; 1:1-69.
- ³⁸ UICC Committee on Clinical Stage Classification and Applied Statistics. Clinical stage classification and presentation of results, malignant tumours of the breast and larynx. Paris: International Union Against Cancer, 1958.
- ³⁹ International Union Against Cancer. TNM classification of malignant tumours. Geneva: International Union Against Cancer, 1968.
- ⁴⁰ International Union Against Cancer. TNM classification of malignant tumours. 2nd ed. Geneva: International Union Against Cancer, 1974.
- ⁴¹ Harmer MH, editor. TNM classification of malignant tumours, 3rd ed (enlarged and revised 1982). Geneva: International Union Against Cancer, 1978.
- ⁴² Hermanek P, Sobin LH, editors. UICC TNM Classification of Malignant Tumors. 4th ed. (revised 1992). New York: Springer-Verlag, 1987.
- ⁴³ AJCC. Manual for Staging of Cancer. 4th ed. Beahrs OH, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ. Lippincott, Philadelphia, 1992.
- ⁴⁴ Sobin LH, Witteking C, editors. UICC TNM Classification of Malignant Tumors. 5th ed. New York: Wiley-Liss, Inc., 1997.
- ⁴⁵ Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, Hutter RVP, Kennedy BJ, Murphy GP, et al., editors. AJCC. Cancer staging manual, 5th ed. Philadelphia: Lippincott, 1997.
- ⁴⁶ Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed. New York, NY: Springer-Verlag; 2002.
- ⁴⁷ Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3628-3636.
- ⁴⁸ Singletary SE, Connolly JL. Breast Cancer Staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 37-47.
- ⁴⁹ Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson III AL, Bodurka DC, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology Guideline Recommendations for Sentinel Lymph Node Biopsy in Early-Stage Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23:7703-7720.
- ⁵⁰ Piñero A, Giménez J, Merck B, Vázquez C, et al. Reunión de Consenso sobre la Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela en el Cáncer de Mama. Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. *Rev Senología Patol Mam* 2007; 20: 16-20.
- ⁵¹ González-Palacios JF. Una nueva modificación en la clasificación TNM del cáncer mamario. *Rev Esp Patol* 2004; 37: 247-251.
- ⁵² Chen RC; Lin NU, Golshan M, Harris JR, and Bellon RB. Internal Mammary Nodes in Breast Cancer: Diagnosis and Implications for Patient Management—A Systematic Review. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4981-4989.
- ⁵³ Klauber-Demore N, Bevilacqua JL, Van Zee KJ. Comprehensive review of the management of internal mammary lymph node metastases in breast cancer. *J Am Coll Surg* 2001; 193: 547-555.

-
- ⁵⁴ Brito RA, Valero VV, Buzdar AU. Long-term results of combined-modality therapy for locally advanced breast cancer with ipsilateral supraclavicular metastases: The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol* 2001; 19: 628-633.
- ⁵⁵ Olivotto IA, Chua B, Allan SJ, et al. Long-term survival of patients with supraclavicular metastases at diagnosis of breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 851-4.
- ⁵⁶ Veronesi U, Zurrida S, Viale G, Galimberti V, Arnone P, Nolé F. Rethinking TNM: A Breast Cancer Classification to Guide Treatment and Facilitate Research. *Breast J* 2009; 15: 291-295.
- ⁵⁷ Marco V. Factores pronósticos en el cáncer de mama: parte II. Factores inmunohistoquímicos. *Rev Senología Patol Mam* 2008; 21: 198-203.
- ⁵⁸ Payne SJL, Bowen RL, Jones JL, Wells CA. Predictive markers in breast cancer – the present. *Histopathology* 2008; 52: 82–90.
- ⁵⁹ Checa T, Ardiaca MC, Isern J, Modolell A. De la anatomía patológica convencional a los nuevos perfiles genéticos del cáncer de mama. *Rev Senología Patol Mam* 2008; 21: 162-169.
- ⁶⁰ Esteva FJ, Hortobagyi GN. Prognostic molecular markers in early breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004, 6:109-118.
- ⁶¹ Allred DC, Carlson RW, Berry DA, Burstein HJ, Edge SB, Goldstein LJ, Gown A, Hammond ME, Iglehart JD, Moench S, Pierce LJ, Ravdin P, Schnitt SJ, Wolff AC. NCCN Task Force Report: Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer by Immunohistochemistry. *J Natl Compr Canc Netw* 2009 Sep;7 Suppl 6:S1-S21.
- ⁶² Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Research* 2007; 9: R6.
- ⁶³ Nadji M, Gomez-Fernandez C, Ganjei-Azar P, Morales AR. Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5,993 breast cancers. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 21-27.
- ⁶⁴ Harbeck N, Jakesz R. Sant Gallen 2007: Breast Cancer treatment consensus report. *Breast Care* 2007; 2: 130-134.
- ⁶⁵ Nakajima H, Fujiwara I, Mizuta N, Sakaguchi K, Hachimine Y, Konishi E, Yanagisawa A, Magae J. Prognosis of Japanese Breast Cancer Based on Hormone Receptor and HER2 Expression Determined by Immunohistochemical Staining. *World J Surg* 2008; 32: 2477–2482.
- ⁶⁶ Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344: 783-792.
- ⁶⁷ Pérez E; Romond E, Suman V, Jeong J, Davidson N, Geyer C, et al. Updated results of the combined análisis of NCCTG N9831 and NSABP B-31 adjuvant chemotherapy with/without trastuzumab in patients with HER2-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: abstract 512.
- ⁶⁸ Andreu FJ. Factores pronósticos en el cáncer de mama: Parte III. Factores moleculares. *Rev Senología Patol Mam* 2009; 22: 20-24.
- ⁶⁹ Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 25:118-145.

-
- ⁷⁰ Gown AM, Goldstein LC, Barry TS, Kussick SJ, Kandalaft PL, Kim PM, et al. High concordance between immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization testing for HER2 status in breast cancer requires a normalized IHC scoring system. *Mod Pathol* 2008; 10: 1271-7.
- ⁷¹ Ignatidis M, Sotiriou C. Understanding the molecular basis of histologic grade. *Pathobiology* 2008; 75: 104-111.
- ⁷² Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, Maffini F, Maiorano E, Colleoni M, Price KN, et al. Predictive Value of Tumor Ki-67 Expression in Two Randomized Trials of Adjuvant Chemoendocrine Therapy for Node-Negative Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 207-212.
- ⁷³ Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation Marker Ki-67 in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol* 23: 7212-7220.
- ⁷⁴ Tewari M, Krishnamurthy A, Shukla HS. Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Surgical Oncology* 2008; 17: 301-311.
- ⁷⁵ Gasparini G, Dal Fior S, Pozza F, Bevilacqua P. Correlation of growth fraction Ki-67 immunohistochemistry with histologic factors and hormone receptors in operable breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1989; 14: 3329-36.
- ⁷⁶ Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322.
- ⁷⁷ Battifora H: The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest* 1986; 55: 244-248.
- ⁷⁸ Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998; 4: 844-847.
- ⁷⁹ Escobar J, Astudillo A, Menéndez P, Belyakova E. Aplicación de los Tissue Microarrays en el estudio inmunohistoquímico de los tumores. *Rev Esp Patol* 2006; 39:11-17.
- ⁸⁰ Nocito A, Kononen J, Kallioniemi OP. Tissue Microarrays for High-throughput Molecular Pathology Research. *Int J Cancer* 2001; 94: 1-5.
- ⁸¹ Gillett CE, Springall RJ, Barnes DM. Multiple Tissue Arrays in Histopathology Research: a validation study. *J Pathol* 2000; 192: 549-53.
- ⁸² Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of Tissue Microarray Technology in Breast Carcinoma. *Lab Invest* 2000; 80: 1943-9.
- ⁸³ Moinfar F. The normal Breast. En Moinfar F, ed. *Essentials of Diagnostic Breast Pathology. A practical approach*. Springer-Verlag. Berlín, 2007.
- ⁸⁴ Liu S, Dontu G, Wicha MS. Mammary stem cells, self-renewal pathways, and carcinogenesis. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 86-95.
- ⁸⁵ Ravdin PM, Siminoff LA, Davis GJ, Mercer MB, Hewlett J, Gerson N, Parker HL. Computer program to assist in making decisions about adjuvant therapy for women with early breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 980-991.
- ⁸⁶ Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn H-J, & Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009. *Annals of Oncology* 2009; 20: 1319-1329.

-
- ⁸⁷ Eifel P, Axelson JA, Costa J, et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1-3, 2000; *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 979-989.
- ⁸⁸ www.adjuvantonline.com.
- ⁸⁹ Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; 270: 467-70.
- ⁹⁰ Henríquez-Hernández LA, Fernández-Pérez L, Díaz-Chico N. Del laboratorio a la clínica: desarrollo de perfiles genéticos en cáncer de mama. *Rev Senología Patol Mam* 2009; 22: 18-27.
- ⁹¹ Peppercorn J, Perou CM, Carey LA. Molecular subtypes in breast cancer evaluation and management: divide and conquer. *Cancer Invest* 2008 Feb; 26: 1-10.
- ⁹² Hergueta-Redondo M, Palacios J, Cano A, Moreno-Bueno G. "New" molecular taxonomy in breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 777-785.
- ⁹³ Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Monville F et al. Gene expression profiling of breast cell lines identifies potential new basal markers. *Oncogene* 2006; 25: 2273-2284.
- ⁹⁴ Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-10874.
- ⁹⁵ Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10393-10398.
- ⁹⁶ Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression datasets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 8418-8423.
- ⁹⁷ van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-536.
- ⁹⁸ Yu K, Lee CH, Tan PH, et al. Conservation of breast cancer molecular subtypes and transcriptional patterns of tumor progression across distinct ethnics populations. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5508-5517.
- ⁹⁹ Weigelt B, Glas AM, Wessels LF, et al. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15901-15905.
- ¹⁰⁰ Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006; 7: 96.
- ¹⁰¹ Schneider J. Los tests de análisis de perfil genético: aportaciones para la práctica clínica diaria. *Rev Senología Patol Mam* 2009; 22 (Supl. 1): 28-32.
- ¹⁰² Van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
- ¹⁰³ Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen treated node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2817-2826.
- ¹⁰⁴ Lluch A, Bosch A. Editorial. *Rev Senología Patol Mam* 2009; 22 (Supl. 1): 1-3.

-
- ¹⁰⁵ Callagy G, Cattaneo E, Daigo Y, Happerfield L, Bobrow L, Pharoah PD, Caldas C. Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays. *Diagn Mol Pathol* 2003; 12: 27-34.
- ¹⁰⁶ Abd El-Rehim DM, Ball G, Pinder SE, et al. High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analysis. *Int J Cancer* 2005; 116: 340-350.
- ¹⁰⁷ Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Combinatorial biomarker expression in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* [Epub ahead of print Dec 2009] DOI 10.1007/s10549-010-0746-x.
- ¹⁰⁸ André F, Domont J, Delagoge S. What can breast cancer molecular subclassification add to conventional diagnostic tools? *Ann Oncol* 2007; 18 (Supl. 9): 33-36.
- ¹⁰⁹ Adélaïde J, Finetti P, Bekhouche I et al. Integrated profiling of basal and luminal breast cancers. *Cancer Res* 2007; 67: 11565–11575.
- ¹¹⁰ Brenton JD, Carey LA; Ahmed AA, Caldas C. Molecular Classification and Molecular Forecasting: Ready for Clinical Application?. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350-7360.
- ¹¹¹ Melchor L, Benítez J. An integrative hypothesis about the origin and development of sporadic and familial breast cancer subtypes. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1475–1482.
- ¹¹² Chin K, DeVries S, Fridlyand J et al. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiologies. *Cancer Cell* 2006; 10: 529–541.
- ¹¹³ Herschkowitz JI, He X, Fan C et al. The functional loss of the retinoblastoma tumour suppressor is a common event in basal-like and luminal B breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R75.
- ¹¹⁴ Vanden Bempt I, Drijkoningen M, De Wolf-Peeters C. The complexity of genotypic alterations underlying HER2-positive breast cancer: an explanation for its clinical heterogeneity. *Curr Opin Oncol* 2007; 19: 552–557.
- ¹¹⁵ Barghava R, Striavel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, Dabbs DJ. Prevalence, Morphologic Features and Proliferation Indices of Breast Carcinoma Molecular Classes Using Immunohistochemical Surrogate Markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2: 444-455.
- ¹¹⁶ Farmer P, Bonnefoi H, Becette V et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* 2005; 24: 4660–4671.
- ¹¹⁷ Marchiò C, Natrajan R, Shiu K et al. The genomic profile of HER2-amplified breast cancers: the influence of ER status. *J Pathol* 2008; 216: 399–407.
- ¹¹⁸ Morris SR, Carey LA. Gene expression profiling in breast cancer. *Curr Opin Oncol* 2007; 19: 547–551.
- ¹¹⁹ Pusztai L, Mazouni C, Anderson K et al. Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *Oncologist* 2006; 11:868–877.
- ¹²⁰ Geyer FC, Marchiò C, Reis-Filho JS. The role of molecular analysis in breast cancer. *Pathology* 2009; 41: 77-88.
- ¹²¹ LaMarca HL, Rosen JM. Minireview: Hormones and Mammary Cell Fate-What Will I Become When I Grow Up?. *Endocrinology* 2008; 149: 4317-4321.
- ¹²² Villadsen R, Fridriksdottir AF, Rønnov-Jessen L, Gudjonsson T, Rank F, LaBarge MA, Bissell MJ, Petersen OW. Evidence for a stem cell hierarchy in the adult human breast. *J Cell Biol* 2007; 177: 87-101.

-
- ¹²³ Dontu G, El-Ashry D, Wicha MS. Breast Cancer, stem/progenitor cells and the estrogen receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 193–197.
- ¹²⁴ Visvader JE, Lindeman GJ. Mammary stem cells and mammopoiesis. *Cancer Res* 2006; 66: 9798–9801.
- ¹²⁵ Stingl J, Caldas C. Molecular heterogeneity of breast carcinomas and the cancer stem cell hypothesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 791–799.
- ¹²⁶ Korsching E, Jeffrey SS, Meinerz W, Decker T, Boecker W, Buerger H. Basal carcinoma of the breast revisited: an old entity with new interpretations. *J Clin Pathol* 2008; 61: 553–560.
- ¹²⁷ Dontu G. Breast cancer stem cell markers – the rocky road to clinical applications. *Breast Cancer Res* 2008; 10: 110.
- ¹²⁸ Kakarala M, Wicha MS. Implications of the Cancer Stem-Cell Hypothesis for Breast Cancer Prevention and Therapy. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2813–2820.
- ¹²⁹ Fadare O, Tavassoli FA. The phenotypic spectrum of basal-like breast cancers: a critical appraisal. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 558–373.
- ¹³⁰ Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11–24.
- ¹³¹ Knight J, Gusterson B, Jones RR, et al. Monoclonal antibodies specific for subsets of epidermal keratins: biochemical and immunocytochemical characterization—applications in pathology and cell culture. *J Pathol* 1985; 145: 341–354.
- ¹³² Dairkee SH, Mayall BH, Smith HS, et al. Monoclonal marker that predicts early recurrence of breast cancer. *Lancet* 1987; 1: 514.
- ¹³³ Domagala W, Lasota J, Bartkowiak J, et al. Vimentin is preferentially expressed in human breast carcinomas with low estrogen receptor and high Ki-67 growth fraction. *Am J Pathol* 1990; 136: 219–227.
- ¹³⁴ Fadare O, Tavassoli FA. Clinical and pathological aspects of basal-like breast cancers. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5: 149–159.
- ¹³⁵ Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5678–5685.
- ¹³⁶ Calza S, Hall P, Auer G, et al. Intrinsic molecular signature of breast cancer in a population-based cohort of 412 patients. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R34.
- ¹³⁷ van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, et al. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2002; 161: 1991–1996.
- ¹³⁸ Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004; 203: 661–671.
- ¹³⁹ Foulkes WD, Brunet JS, Stefansson IM, et al. The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/p27 low/p53+/ glomeruloid-microvascular proliferation+) phenotype of BRCA1- related breast cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 830–835.
- ¹⁴⁰ Jones C, Ford E, Gillett C, et al. Molecular cytogenetic identification of subgroups of grade III invasive ductal breast carcinomas with different clinical outcomes. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5988–5997.

-
- ¹⁴¹ Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5367–5374.
- ¹⁴² Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Garcia SB, et al. p63 correlates with both BRCA1 and cytokeratin 5 in invasive breast carcinomas: further evidence for the pathogenesis of the basal phenotype of breast cancer. *Histopathology* 2005; 47: 458–466.
- ¹⁴³ Arnes JB, Brunet JS, Stefansson I, et al. Placental cadherin and the basal epithelial phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4003–4011.
- ¹⁴⁴ Kusinska R, Potemski P, Jesionek-Kupnicka D, et al. Immunohistochemical identification of basal-type cytokeratins in invasive ductal breast carcinoma—relation with grade, stage, estrogen receptor and HER2. *Pol J Pathol* 2005; 56: 107–110.
- ¹⁴⁵ Potemski P, Kusinska R, Watala C, et al. Prognostic relevance of basal cytokeratin expression in operable breast cancer. *Oncology* 2005; 69: 478–485.
- ¹⁴⁶ Laakso M, Loman N, Borg A, et al. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol* 2005; 18: 1321–1328.
- ¹⁴⁷ Collett K, Stefansson IM, Eide J, et al. A basal epithelial phenotype is more frequent in interval breast cancers compared with screen detected tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1108–1112.
- ¹⁴⁸ Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 2006; 49: 22–34.
- ¹⁴⁹ Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, et al. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* 2006; 37: 1217–1226.
- ¹⁵⁰ Ribeiro-Silva A, Ribeiro do Vale F, Zucoloto S. Vascular endothelial growth factor expression in the basal subtype of breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 512–518.
- ¹⁵¹ Banerjee S, Reis-Filho JS, Ashley S, et al. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy. *J Clin Pathol* 2006; 59: 729–735.
- ¹⁵² Rodriguez-Pinilla SM, Sarrio D, Honrado E, et al. Prognostic significance of basal-like phenotype and fascin expression in node negative invasive breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1533–1539.
- ¹⁵³ Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006; 208: 495–506.
- ¹⁵⁴ Rakha EA, El-Rehim DA, Paish C, et al. Basal phenotype identifies a poor prognostic subgroup of breast cancer of clinical importance. *Eur J Cancer* 2006; 42: 3149–3156.
- ¹⁵⁵ Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492–2502.
- ¹⁵⁶ Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed Triple Negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5652–7.
- ¹⁵⁷ Siziopikou KP, Cobleigh M. The basal subtype of breast carcinomas may represent the group of breast tumors that could benefit from EGFR-targeted therapies. *Breast* 2007; 16: 104–107.

-
- ¹⁵⁸ Rodriguez-Pinilla SM, Sarrio D, Honrado E, et al. Vimentin and laminin expression is associated with basal-like phenotype in both sporadic and BRCA1-associated breast carcinomas. *J Clin Pathol* 2007; 60: 1006-1012.
- ¹⁵⁹ Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007; 109: 25-32.
- ¹⁶⁰ Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 2007; 9:R4.
- ¹⁶¹ Kurebayashi J, Moriya T, Ishida T, Hirakawa H, Kurosumi M, Akiyama F, et al. The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races. *The Breast* 2007; 16: S72-S77.
- ¹⁶² Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, et al. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16 :439-443.
- ¹⁶³ Jumppanen M, Gruvberger-Saal S, Kauraniemi P, Tanner M, Bendahl P, Lundin M, Krogh M, Borg A, Ferno M, Isola J. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Research* 2007; 9: R16.
- ¹⁶⁴ Rakha EA et al. Breast carcinoma with basal differentiation: a proposal for pathology definition based on basal cytokeratin expression. *Histopathology* 2007; 50: 434-438.
- ¹⁶⁵ Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-Like Breast Cancer: A Critical Review. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2568-2581
- ¹⁶⁶ Rakha E, Reis-Filho JS. Basal-like Breast Carcinoma. From Expression Profiling to Routine Practice. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133; 860-868.
- ¹⁶⁷ Seewaldt VL, Scott V. Rapid Progression of Basal-Type Breast Cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 13.
- ¹⁶⁸ Luck AA, Evans AJ, James JJ, Rakha EA, Paish EC, Green AR, Ellis IO. Breast Carcinoma with Basal Phenotype: Mammographic Findings. *AJR* 2008; 191: 346-351.
- ¹⁶⁹ Wang X, Chao L, Chen L, Ma G, Jin G, Hua M, Zhou G. The mammographic correlation with Basal-like phenotype of invasive breast cancer. *Acta Radiol* 2010; 17: 333-339.
- ¹⁷⁰ Rakha EA, El-Sayed ME, Reis-Filho J, Ellis IO. Patho-biological aspects of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113: 411-422.
- ¹⁷¹ Hüsemann Y, Geigl JB, Schubert F, Musiani P, Meyer M, Burghart E, Forni G, Eils R, Fehm T, Riethmüller G, Klein CA. Systemic Spread Is an Early Step in Breast Cancer. *Cancer Cell* 2008; 13, 58-68.
- ¹⁷² Gupta GP, Massagué J. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell* 2006; 127: 679-695.
- ¹⁷³ Patanaphan V, Salazar OM, Risco R. Breast cancer: metastatic patterns and their prognosis. *South Med J* 1988; 81: 1109-1112.
- ¹⁷⁴ Huber KE, Carey LA, Wazer DE. Breast Cancer Molecular Subtypes in Patients with Locally Advanced Disease: Impact on Prognosis, Patterns of Recurrence and response to Therapy. *Semin Radiat Oncol* 2009; 19: 204-210.
- ¹⁷⁵ Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa F, Fukutomi T, Hirohashi S. Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 197-202.

-
- ¹⁷⁶ Hicks DG, Short SM, Prescott NL, et al. Breast cancers with brain metastases are more likely to be estrogen receptor negative, express the basal cytokeratin CK5/6, and overexpress HER2 or EGFR. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 1097–1104.
- ¹⁷⁷ Gaedcke J, Traub F, Milde S, et al. Predominance of the basal type and HER-2/neu type in brain metastasis from breast cancer. *Mod Pathol* 2007; 20: 864–870.
- ¹⁷⁸ Martínez de Dueñas E, Chirivella I, Magro A, Lluch A. Cáncer de mama basal. *Rev Senologia Patol Mam* 2008; 21: 117-125.
- ¹⁷⁹ Fisher B, Jeong JH, Anderson S, Bryant J, Fisher ER, Wolmark N. Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. *N Engl J Med* 2002; 347:567-575.
- ¹⁸⁰ Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozi R, Luini A, Aguilar M, Marubini E. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing Breast-Conserving Surgery with Radical Mastectomy. *N Engl J Med* 2002; 347: 1227-1232.
- ¹⁸¹ Freedman GM, Anderson PR, Li T, Nicolaou N. Locoregional recurrence of triple-negative breast cancer after breast-conserving surgery and radiation. *Cancer* 2009; 115: 946-951.
- ¹⁸² Acea Nebril B. Cirugía Oncoplástica conservadora en el Cáncer de Mama. Indicaciones y límites en su aplicación quirúrgica. *Cir Esp* 2005; 78:12-18.
- ¹⁸³ Clough KB, Lewis JS, Couturaud B, Fitoussi A, Nos C, Falcou MC. Oncoplastic Techniques Allow Extensive Resections for Breast-Conserving Therapy of Breast Carcinomas. *Ann Surg* 2003; 237: 26-34.
- ¹⁸⁴ Rietjens M, Urban CA, Rey PC, Mazzarol G, Maisonneuve P, Garusi C, Intra M, Yamaguchi S, Kaur N, De Lorenzi F, Matthes AG, Zurrida S, Petit JY. Long-term oncological results of breast conservative treatment with oncoplastic surgery. *Breast* 2007; 16: 387-395.
- ¹⁸⁵ Acea Nebril B. Cirugía sin cicatrices visibles en el tratamiento del cáncer de mama. *Cir Esp* 2010; 87: 210-217.
- ¹⁸⁶ Fatouros M, Baltoyiannis G, Roukos DH. The Predominant Role of Surgery in the Prevention and New Trends in the Surgical Treatment of Women with BRCA1/2 Mutations. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 21-33.
- ¹⁸⁷ Pierce LJ, Levin AM, Rebbeck TR, et al. Ten-year multi-institutional results of breast-conserving surgery and radiotherapy in BRCA1/2-associated stage I/II breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2437-2443.
- ¹⁸⁸ Güemes A, Sousa R, Navarro A, Val-Carreres P, Moros M, Sainz JM, Mayordomo JJ, Andrés R, Polod E, Álvarez I, Lozano R. Aspectos técnicos y resultados de la mastectomía profiláctica en pacientes con elevado riesgo de cáncer de mama. *Cir Esp* 2004; 75: 123-128.
- ¹⁸⁹ Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: chemosensitivity, treatment outcomes and prognosis. *Fam Cancer* 2006; 5: 135–142.
- ¹⁹⁰ Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1482–1485.
- ¹⁹¹ Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene* 2006; 25: 5846–5853.
- ¹⁹² Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS, Sofronis A, Gillet CE, Lakhani SR, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 2006; 49: 22-34.

-
- ¹⁹³ Palacios J, Honrado E, Osorio A, et al. Phenotypic characterization of BRCA1 and BRCA2 tumors based in a tissue microarray study with 37 immunohistochemical markers. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90: 5-14.
- ¹⁹⁴ Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5175-5.
- ¹⁹⁵ Foulkes WD. BRCA1 functions as a breast stem cell regulator. *J Med Genet* 2004; 41: 1-5.
- ¹⁹⁶ Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, et al. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours. *Histopathology* 2006;49:10-21.
- ¹⁹⁷ Weigelt B, Kreike B, Reis-Filho JS. Metaplastic breast carcinomas are basal-like breast cancers: a genomic profiling analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117: 273-280.
- ¹⁹⁸ Jacquemier J, Padovani L, Rabayrol L, et al. Typical medullary breast carcinomas have a basal/myoepithelial phenotype. *J Pathol* 2005; 207:260-268.
- ¹⁹⁹ Bertucci F, Finetti P, Cervera N, et al. Gene expression profiling shows medullary breast cancer is a subgroup of basal breast cancers. *Cancer Res* 2006; 66:4636-4644.
- ²⁰⁰ Rodriguez-Pinilla SM, Rodriguez-Gil Y, Moreno-Bueno G, et al. Sporadic invasive breast carcinomas with medullary features display a basal-like phenotype: an immunohistochemical and gene amplification study. *Am J Surg Pathol* 2007;31:501-508.
- ²⁰¹ Reis-Filho JS, Simpson PT, Martins A, et al. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin 14 in 51 normal and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. *Virchows Arch* 2003; 443:1 22-13.
- ²⁰² Azoulay S, Lae M, Freneaux P, et al. KIT is highly expressed in adenoid cystic carcinoma of the breast, a basal-like carcinoma associated with a favourable outcome. *Mod Pathol* 2005; 18: 1623-1631.
- ²⁰³ Laé M, Fréneaux P, Sastre-Garau X, Chouchane O, Sigal-Zafrani B, Vincent-Salomon A. Secretory breast carcinomas with ETV6-NTRK3 fusion gene belong to the basal-like carcinoma spectrum. *Mod Pathol* 2009 ; 22: 291-8.
- ²⁰⁴ Hungermann D, Buerger H, Oehlschlegel C, et al. Adenomyoepithelial tumours and myoepithelial carcinomas of the breast: a spectrum of monophasic and biphasic tumours dominated by immature myoepithelial cells. *BMC Cancer* 2005; 5: 92.
- ²⁰⁵ Dabbs DJ, Chivukula M, Carter G, Bhargava R. Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile. *Mod Pathol* 2006; 19: 1506-1511.
- ²⁰⁶ Paredes J, Lopes N, Milanezi F, et al. P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Arch* 2007; 450: 73-80.
- ²⁰⁷ Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC. Ductal carcinoma in situ with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2006; 19: 617-621.
- ²⁰⁸ Livasy CA, Perou CM, Karaca G, Cowan DW, Maia D, Jackson S, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 2007; 38: 197-204.
- ²⁰⁹ Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, Brufsky AM, Lembersky BC, Ahrendt GM. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer* 2010; 116: 1431-1439.

-
- ²¹⁰ Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of the basal-like breast cancer (BBC) phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 88 (Supl. 1): S48.
- ²¹¹ Lin Y, Lin SH, Watson M, Trinkaus KM, Kuo S, Naughton MJ, Weilbaeher K, Fleming TP,cca Aft RL. A gene expression signature that predicts the therapeutic response of the basal-like breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*; [Epub ahead of print Dec 2009] DOI 10.1007/s10549-009-0664-y.
- ²¹² Jorgensen JT, Vang Nielsen K, Ejlersten B: Pharmacodiagnosics and targeted therapies – a rational approach for individualizing medical anticancer therapy in breast cancer. *Oncologist* 2007; 12: 397-405.
- ²¹³ Mendelsohn J, Baselga, J: Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *Semin Oncol* 2006; 33: 369-385.
- ²¹⁴ Reis-Filho JS, Pinheiro C, Lambros MB, et al: EGFR amplification and lack of activating mutations in metaplastic breast carcinomas. *J Pathol* 2006; 209: 445-453.
- ²¹⁵ Flanagan M, et al. EGFR amplification is an uncommon event in basal-like breast carcinomas. *Lab Invest* 2007; 87 (suppl 1): 31A.
- ²¹⁶ Burness ML, Grushko TA, Olopade OI. Epidermal Growth Factor Receptor in Triple-Negative and Basal-Like Breast Cancer: Promising Clinical Target or Only a Marker?. *Cancer J* 2010; 16: 23-32.
- ²¹⁷ Simon R, Panussis S, Maurer R, et al: KIT (CD117)-positive breast cancers are infrequent and lack KIT gene mutations. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 178-183.
- ²¹⁸ Bosch A, Eroles P, Zaragoza R, Viña JR, Lluch A. Triple-negative breast cancer: Molecular features, patogénesis, treatment and current lines of research. *Cancer Treat Rev* 2010; 36: 206-215.
- ²¹⁹ Kyndy M Sørensen FB, Knudsen H, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, Her-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer. The Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1419-1426.
- ²²⁰ Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R65.
- ²²¹ Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4429–34.
- ²²² Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, et al. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 419–30.
- ²²³ Rakha EA, Tan DS, Foulkes WD, Ellis IO, Tutt A, Nielsen TO, Reis-Filho JS. Are triple-negative tumours and basal-like breast cancer synonymous?. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R80.
- ²²⁴ Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008; 52: 108-118.
- ²²⁵ Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review. *Pathology* 2009; 41: 40-47.
- ²²⁶ Bertucci F, Finetti P, Cervera N, et al. How basal are triple-negative breast cancers?. *Int J Cancer* 2008; 123: 236–40.

-
- ²²⁷ Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou AM, Nielsen TO. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1368–76.
- ²²⁸ Tischkowitz M, Brunet JS, Bégin LR, Huntsman DG, Cheang MC, Akslen LA, Nielsen TO, Foulkes WD. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007; 7: 134.
- ²²⁹ Dawson SJ, Provenzano E, Caldas C. Triple negative breast cancers: clinical and prognostic implications. *Eur J Cancer* 2009; 45 Suppl 1: 27-40.
- ²³⁰ Aye A, Cheok PY, Jara-lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Modern Pathology* 2010; 23: 123-133.
- ²³¹ Liu H, Fan Q, Zhang Z, et al. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers. *Hum Pathol* 2008; 39: 167–74.
- ²³² Foulkes WD, Grainge MJ, Rakha EA, Green AR, Ellis IO. Tumor size is an unreliable predictor of prognosis in basal-like breast cancers and does not correlate closely with lymph node status. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117: 199-204.
- ²³³ Cortizo-Torres ME, Cameselle-Teijeiro JF, López-Touza A, Duarte F, Schmitt FC. Cáncer de mama. De la consulta al genoma. Premio Fundación Barrié de la Maza 2001. Real Academia de Medicina y Cirugía de Galicia.
- ²³⁴ Cortizo-Torres ME, Cameselle-Teijeiro JF, Duarte F, Schmitt FC, López-Touza A. Criteria for definition of Hereditary Breast Cancer in clinic perspective. *Breast J* 2002; 8: 402-403.
- ²³⁵ López-Touza A, Cameselle-Teijeiro JF, Senra-Varela A. Familial Breast Cancer Proposal of new criteria. *Breast J* 2001; 7: 70-71.
- ²³⁶ Rosen PP. Rosen's Breast Pathology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2009.
- ²³⁷ Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 9th ed. Mosby, London 2004.
- ²³⁸ Rippey JJ. More about counting mitoses. *Human Pathology* 1996; 27: 1109-1110.
- ²³⁹ Sannino P, Shousa S. Demonstration of oestrogen receptors in paraffin wax sections of breast carcinoma using the monoclonal antibody 1D5 and microwave oven processing. *J Clin Pathol* 1994; 47:90-92.
- ²⁴⁰ Schmitt FC, Ponsa CV. Factores predictivos en la terapia del carcinoma de mama. *Rev Senología Patol Mam* 2000; 13:31-38.
- ²⁴¹ Schmitt FC. Prognóstico do cancro da mama: avaliacao do impacto de novos métodos face aos factores prognósticos tradicionais. *Arq Med (Portugal)* 1994; 8: 319-324.
- ²⁴² Schmitt FC, Soares R, Cirnes L, Seruca R. P53 in breast carcinomas: association between presence of mutation and immunohistochemical expression using a semiquantitative approach. *Pathol Res Pract* 1998; 194: 815-819.
- ²⁴³ Schmitt FC, Ferreira MP. MIB-1 is a suitable marker of proliferative activity in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of breast cancer. *Int J Surg Pathol* 1995; 2: 287-294.

-
- ²⁴⁴ Internacional Agency for Research on Cancer. Multiples primaries: International Association of Cancer Registries, Internal Report Nº 94/03. Lyon, 1994.
- ²⁴⁵ Kaplan EL, Meier P. Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481.
- ²⁴⁶ Cox DR, Oakes D. Analysis of survival data. Chapman and Hall, London 1984.
- ²⁴⁷ Senra A, Senra M. La Tesis Doctoral en Medicina. Díaz de Santos, Madrid 2008.
- ²⁴⁸ Ge Y, Sneige N, Eltorky MA, Wang Z, Lin E, Gong, Guo M. Immunohistochemical characterization of subtypes of male breast carcinoma. *Breast Cancer Research* 2009, 11: R28.
- ²⁴⁹ McLean LH, Vuoto HD, Uriburu JL, McLean IL. Carcinoma bilateral de mama. Análisis de 118 casos. *Rev Senología y Patol Mam* 1999; 12:23-27.
- ²⁵⁰ Urban JA. Bilaterality of cancer of the breast. *Cancer* 1967; 20: 867-870.
- ²⁵¹ Fisher ER, Fisher B, Sass R, Wickerham L. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (protocol nº 4) .XI. Bilateral breast cancer. *Cancer* 1984; 54: 3002-3011,
- ²⁵² Lynch HT, Lynch JF. Breast cancer genetics in an oncology clinic: 328 consecutive patients. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 22: 369-371.
- ²⁵³ Mallo-Alonso, R. Evolución de los métodos diagnósticos del cáncer de mama en el sur de Galicia durante 35 años (1974-2008). Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela, 2009.
- ²⁵⁴ Fisher ER, Sass R, Fisher B, et al. Pathologic findings from the national surgical adjuvant project for breast cancer (protocol nº 4). Discriminants for tenth year treatment failure. *Cancer* 1984; 53: 712-723.
- ²⁵⁵ Elston CW. The assessment of histological differentiation in breast cancer. *Aust N Z J Surg* 1984; 54: 11-15.
- ²⁵⁶ Frierson HF Jr., Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, Wilbur DC. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 195-198.
- ²⁵⁷ Gómez-Cuñarro, M. Factores Pronósticos del Cáncer De Mama (Tesis Doctoral). Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela, 2002.
- ²⁵⁸ Lev-Schelouch D, Sperber F, Gat A, Klausner J, Gutman M. Paget's disease of the breast. *Harefuah* 2003; 42(6): 433-7.
- ²⁵⁹ Palade R, Vasilescu D. Paget's disease of Breast. A special form of breast cancer. *Chir (Bucur)* 1995; 44(4): 21-7.
- ²⁶⁰ Foote FW, Stewart FW. Comparative studies of cancerous versus noncancerous breasts. *Ann Surg* 1945; 121:197-222.
- ²⁶¹ Adami H-O, Bergstrom R, Hansen J. Age a first primary as a determinant of the incidence of bilateral breast cancer: cumulative and relative risks in a population-based case-control study. *Cancer* 1985; 55: 643-647.
- ²⁶² Russo IH, Russo J: Hormone prevention of mammary carcinogenesis: a new approach in anticancer research. *Anticancer Res* 1988; 8: 1247.

-
- ²⁶³ Russo J, Lynch H, Russo IH: Mammary gland architecture as a determining factor in the susceptibility of the human breast to cancer. *Breast J* 2001; 7: 278.
- ²⁶⁴ Cortizo-Torres, ME. Cáncer de Mama Hereditario, Familiar y Esporádico: Perfil genético, clínico, histológico e inmunohistoquímico. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela 2001.
- ²⁶⁵ Kuroda N, Ohara M, Inoue K, Mizuno K, Fujishima N, Hamaguchi N, Lee GH. The majority of triple-negative breast cancer may correspond to basal-like carcinoma, but triple-negative breast cancer is not identical to basal like carcinoma. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 128-131.
- ²⁶⁶ Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Modern Pathology* 2010; 23: 123-133.
- ²⁶⁷ Weil RJ, Palmieri DC, Bronder JL, Stark AM, Steeg PS. Breast Cancer Metastasis to the Central Nervous System. *Am J Pathol* 2005, 167:913–920.
- ²⁶⁸ Piñero A, Merck B, Parrilla P. Factores pronósticos y estadificación del cáncer de mama. En: Sierra A, Piñero A, Illana J, eds. Cirugía de la Mama. Guía Clínica de la Asociación Española de Cirujanos. Arán. Madrid, 2006.
- ²⁶⁹ Fowble BL, Schultz DJ, Overmoyer B, Solin LJ, Fox K, Jardine L, Orel S, Glick J. The influence of young age on outcome in early-stage breast cancer. *IJ Radiat Oncol Biol Physics* 1994; 30: 23-33.